



10/519764
PCT/FR03/019792
REC'D PCT/PTC 28 DEC 2004
REC'D 16 SEP 2003
WIPO PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 30 MAI 2003

Pour le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354*01

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W /260399

REMISE DES PIÈCES DATE 28 JUIN 2002 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0208081 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE 28 JUIN 2002 PAR L'INPI		Réservé à l'INPI	
Vos références pour ce dossier (facultatif) B 14083.3 FG BD 1411/CNRS			
Confirmation d'un dépôt par télécopie		<input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie	
2 NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
<i>Demande de brevet initiale</i> <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i>		N°	Date 1.1.1
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>		N°	Date 1.1.1
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)			
NOUVEAUX COMPOSÉS, UTILISABLES EN TANT QU'AGENTS ANTIOXYDANTS DANS DES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES, COSMÉTIQUES OU ALIMENTAIRES ET LEUR PROCÉDÉ DE PRÉPARATION			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation Date 1.1.1 N° Pays ou organisation Date 1.1.1 N° Pays ou organisation Date 1.1.1 N° <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »	
5 DEMANDEUR		<input checked="" type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »	
Nom ou dénomination sociale		COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE	
Prénoms			
Forme juridique		Etablissement Public de Caractère Scientifique, Technique et Industriel	
N° SIREN			
Code APE-NAF			
Adresse	Rue	31-33, rue de la Fédération	
	Code postal et ville	75752	PARIS 15ème
Pays		FRANCE	
Nationalité		Française	
N° de téléphone (facultatif)			
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			

**BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ**

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 2/2

Réserve à l'INPI

REMISE DES PIÈCES
DATE 25 JUIN 2002

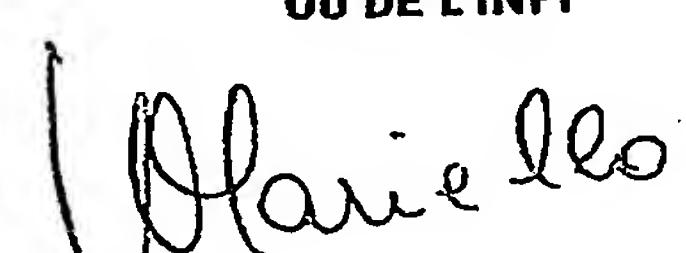
75 INPI PARIS

0208081

N° D'ENREGISTREMENT

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DB 540 W / 260899

6 MANDATAIRE Nom GUERRE Prénom Fabien Cabinet ou Société BREVATOME 422-5/S002 N °de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel PG 7068		B 14083.3 FG BD 1411/CNRS	
Adresse	Rue	3, rue du Docteur Lancereaux	
	Code postal et ville	75008	PARIS
N° de téléphone (facultatif)		01 53 83 94 00	
N° de télécopie (facultatif)		01 45 63 83 33	
Adresse électronique (facultatif)		brevets.patents@brevalex.com	
7 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée			
8 RAPPORT DE RECHERCHE Établissement immédiat ou établissement différé		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation) <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance		Paiement en trois versements, uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requise pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Requise antérieurement à ce dépôt (joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence) :	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes		1	
10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		 F. GUERRE	VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI 

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354*01

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Page suite N° ... / ...

Réervé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES
DATE 28 JUIN 2002

LIEU 75 INPI PARIS

0208081

N° D'ENREGISTREMENT

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 829 W / 2E0899

Vos références pour ce dossier (facultatif)

B 14083.3 FG

**4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ
OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE
LA DATE DE DÉPÔT D'UNE
DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE**

Pays ou organisation
Date ____/____/____

N°

Pays ou organisation
Date ____/____/____

N°

Pays ou organisation
Date ____/____/____

N°

5 DEMANDEUR

Nom ou dénomination sociale

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Prénoms

Forme juridique

N° SIREN

Code APE-NAF

Adresse

Rue

3, rue Michel Ange

Code postal et ville

75794 PARIS CEDEX 16

Pays

FRANCE

Nationalité

française

N° de téléphone (facultatif)

N° de télécopie (facultatif)

Adresse électronique (facultatif)

5 DEMANDEUR

Nom ou dénomination sociale

Prénoms

Forme juridique

N° SIREN

Code APE-NAF

Adresse

Rue

Code postal et ville

Pays

Nationalité

N° de téléphone (facultatif)

N° de télécopie (facultatif)

Adresse électronique (facultatif)

**10 SIGNATURE DU DEMANDEUR
OU DU MANDATAIRE**

(Nom et qualité du signataire)

F. GUERRE

VISA DE LA PRÉFECTURE
OU DE L'INPI

NOUVEAUX COMPOSÉS, UTILISABLES EN TANT QU'AGENTS
ANTIOXYDANTS DANS DES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES,
COSMÉTIQUES OU ALIMENTAIRES ET LEUR PROCÉDÉ DE
PRÉPARATION

5

DESCRIPTION

DOMAINE TECHNIQUE

La présente invention a pour objet de nouveaux composés, pouvant être utilisés en tant qu'agents antioxydants dans des compositions pharmaceutiques, dans des compositions cosmétiques et dans des compositions alimentaires ainsi que leur procédé de préparation.

15 ETAT DE LA TECHNIQUE

Les antioxydants ont pour particularité de capter les radicaux libres, qui sont des molécules très réactives intervenant dans de nombreuses pathologies, en particulier celles découlant d'un stress oxydant, comme par exemple, les maladies cardiovasculaires et le diabète.

20 Ainsi, certains antioxydants peuvent être utilisés pour leur activité anti-inflammatoire, en particulier les antioxydants permettant d'inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires tels que le facteur TNF- α , dans les macrophages et les monocytes.

25 Les antioxydants peuvent également intervenir dans la protection des cellules, en limitant le déclenchement du programme génétique de mort

cellulaire ou apoptose, pouvant être engendré par une accumulation de radicaux libres.

Plusieurs antioxydants d'origine naturelle ont fait l'objet également d'évaluations quant à leur 5 action contre le cancer. Ainsi, dans l'article de M.Jang et al, « Cancer Chemoprotective Activity of Resveratrol, a natural product derived from grapes », Science 1997, 275, 218-220 [1], le résvératrol, une phytoalexine antioxydante extraite du raisin est 10 décrite comme présentant une activité préventive contre le cancer sur des modèles animaux. L'article de M.V Eberhardt et al. « Antioxydant Activity of Fresh Apples », Nature 2000, 405, 903-904 [2] démontre que des extraits de pomme testés sur des lignées 15 cellulaires anticancéreuses engendrent, de même, une activité antiproliférative *in vitro* de ces lignées.

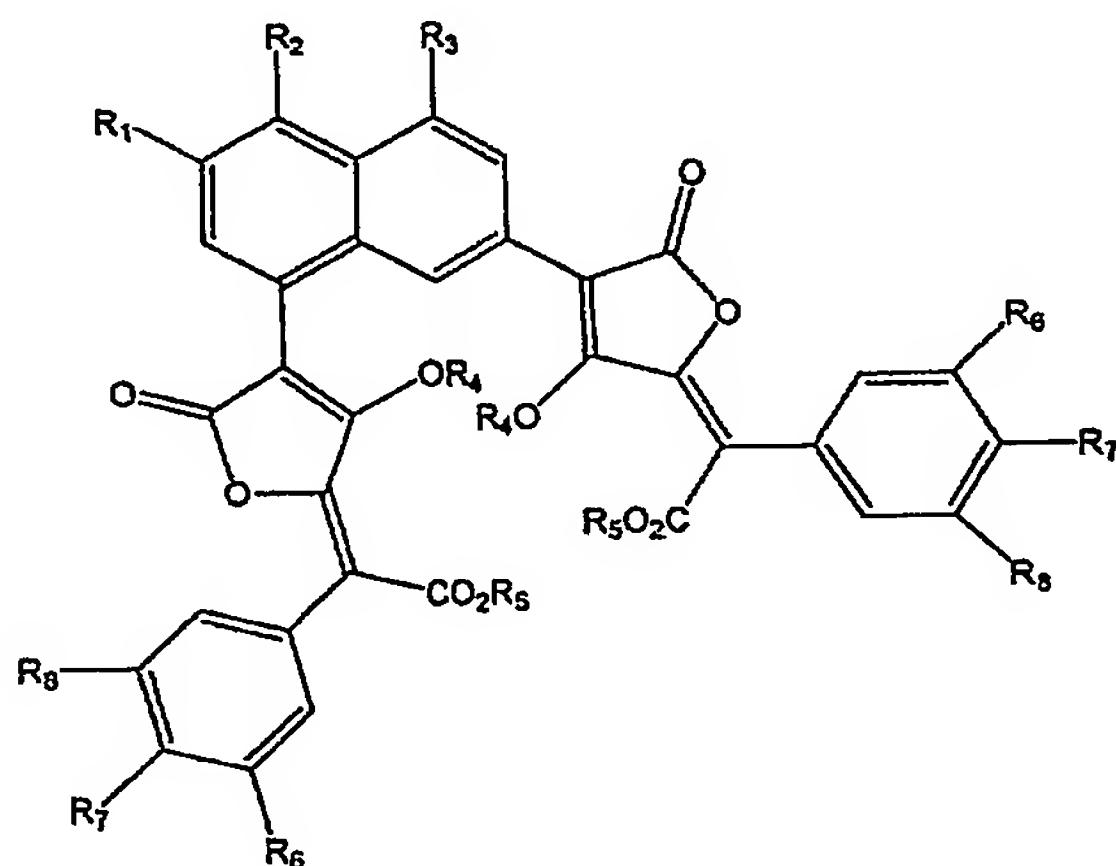
Enfin, des études, telles que celles publiées dans l'article de T.Finkel et al. « Oxydants, Oxidative Stress and the biology of ageing », Nature 20 2000, 408, 239-247 [3] ont également mis en évidence les liens entre stress oxydant et vieillissement cellulaire. De ce fait, on peut envisager d'incorporer des antioxydants dans des compositions cosmétiques, destinés à capter les radicaux libres responsables, 25 notamment de l'apparition de rides.

EXPOSÉ DE L'INVENTION

Le but de la présente invention est de proposer de nouveaux composés, utilisables en tant qu'agents antioxydants ainsi qu'un procédé de 30 préparation de ces composés et également des

compositions pharmaceutiques, cosmétiques, et alimentaires comprenant ces agents.

Ainsi, la présente invention a pour objet
5 des composés répondant à la formule (I) suivante :



(I)

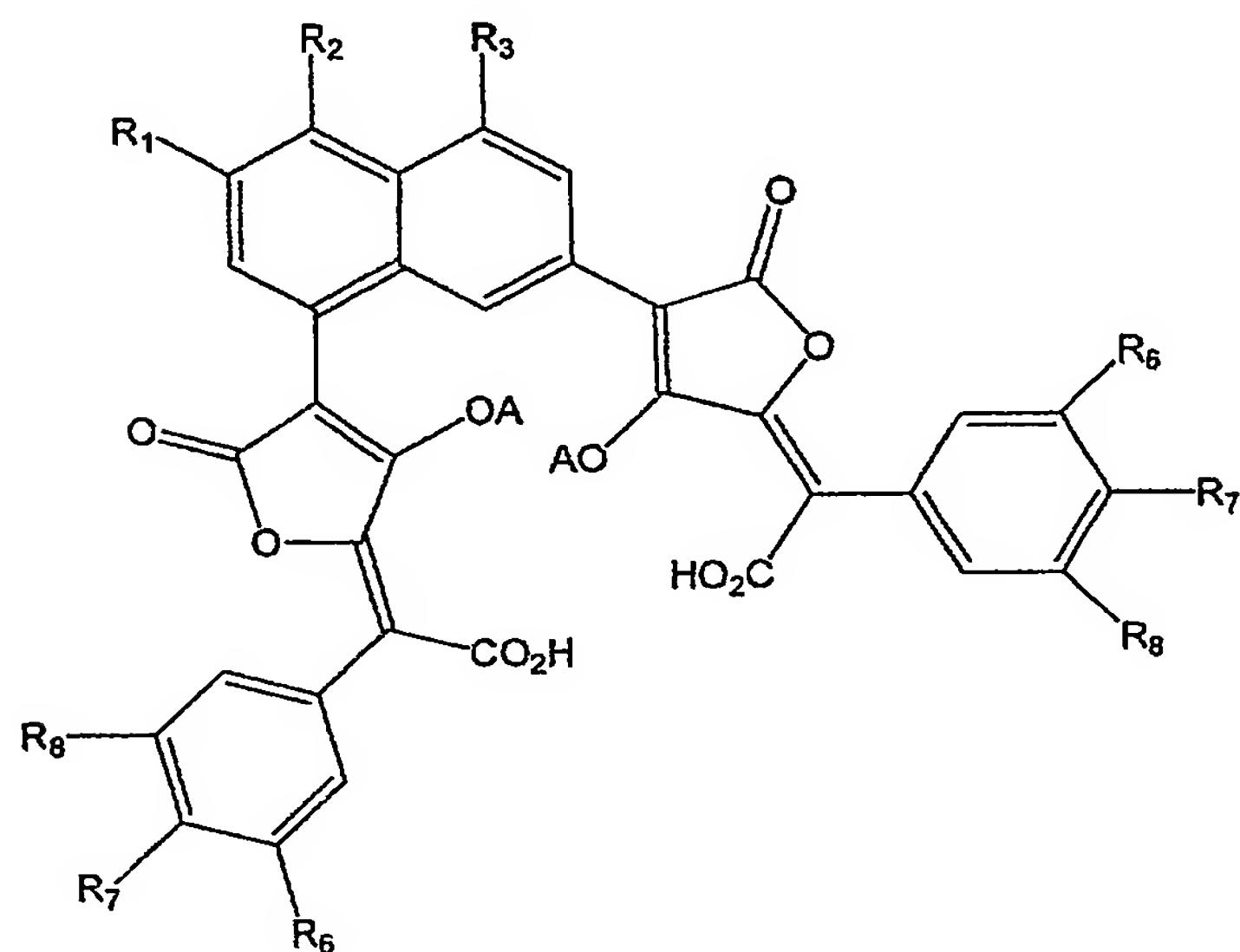
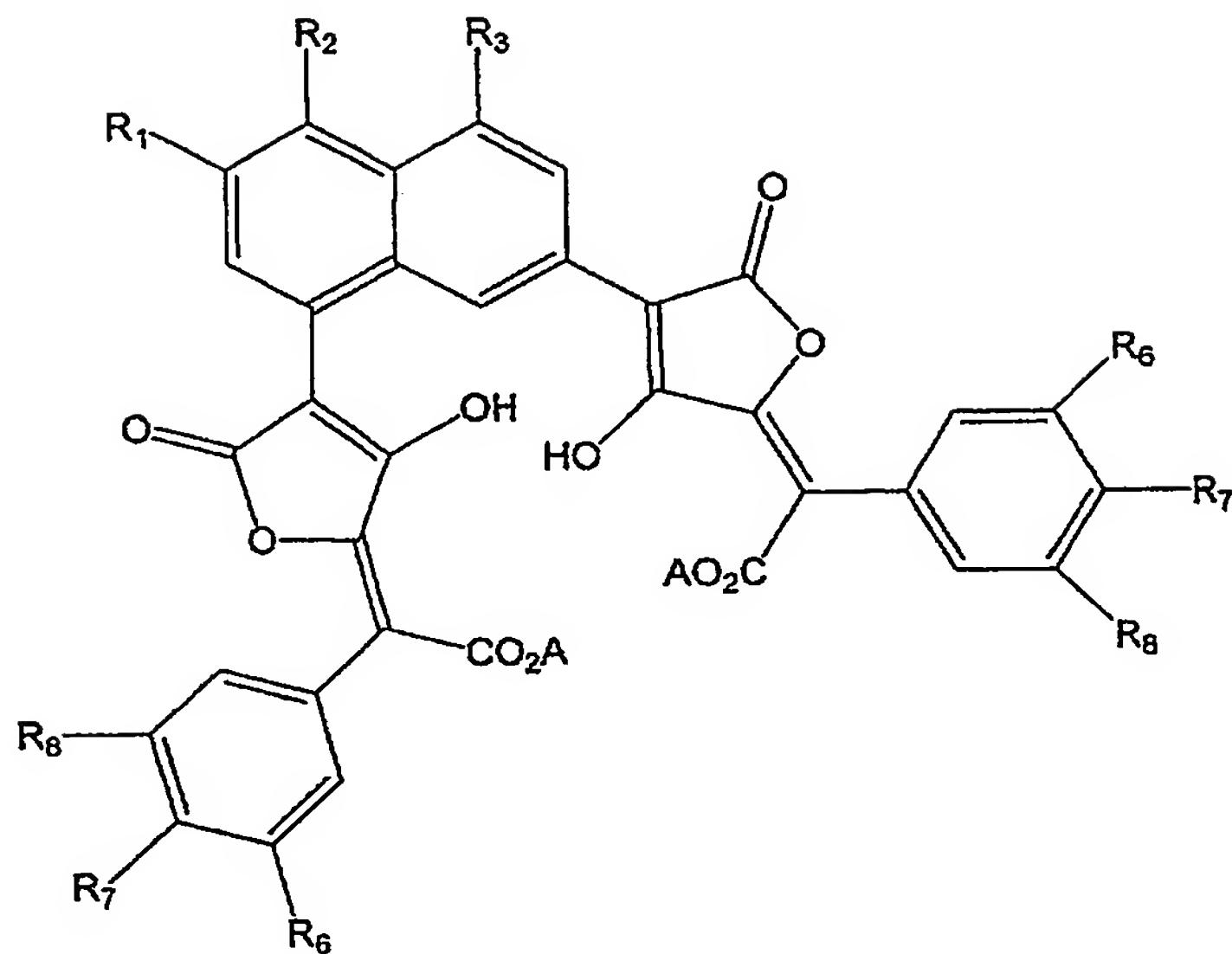
dans laquelle les R_1 , R_6 , R_7 et R_8 , identiques ou
différents, représentent H, -OH ou OR_9 , R_2 représente H,
10 -OH ou $-OR_9$, R_3 représente H, R_9 , $-CO_2R_9$ ou $-CO-NHR_{10}$, ou
 R_2 et R_3 forment ensemble un groupe $-O-CO-$, les R_4 et R_5 ,
identiques ou différents, représentent H ou R_9 , R_9
représentant un groupe alkyle linéaire ou ramifié
comportant de 1 à 20 atomes de carbone, R_{10} représentant
15 R_9 ou $-(CH_2)_a-NH-(CH_2)_b-NH_2$, a et b étant des entiers
allant de 2 à 4 et leurs sels, à l'exception du composé
dans lequel R_2 et R_3 forment ensemble un groupe $-O-CO-$,
les R_4 , R_5 , R_6 et R_8 représentent H, les R_1 et R_7
représentent -OH et du disel de potassium correspondant
20 à ce composé, à l'exception du composé dans lequel R_2
et R_3 forment ensemble un groupe $-O-CO-$, les R_1 et R_7
représentent $-OCH_3$, les R_4 et R_5 représentent $-CH_3$ et
les R_6 et R_8 représentent H et à l'exception du composé

dans lequel les R_1 , R_2 et R_7 représentent $-O-CH_3$, R_3 représente $-CO_2CH_3$, les R_4 et R_5 représentent CH_3 et les R_6 et R_8 représentent H.

L'invention comprend également les sels
5 éventuels correspondant à ces composés.

On entend, selon l'invention, par sels les composés de structure ionique résultant de l'action d'une base minérale sur le ou les protons labiles du composé.

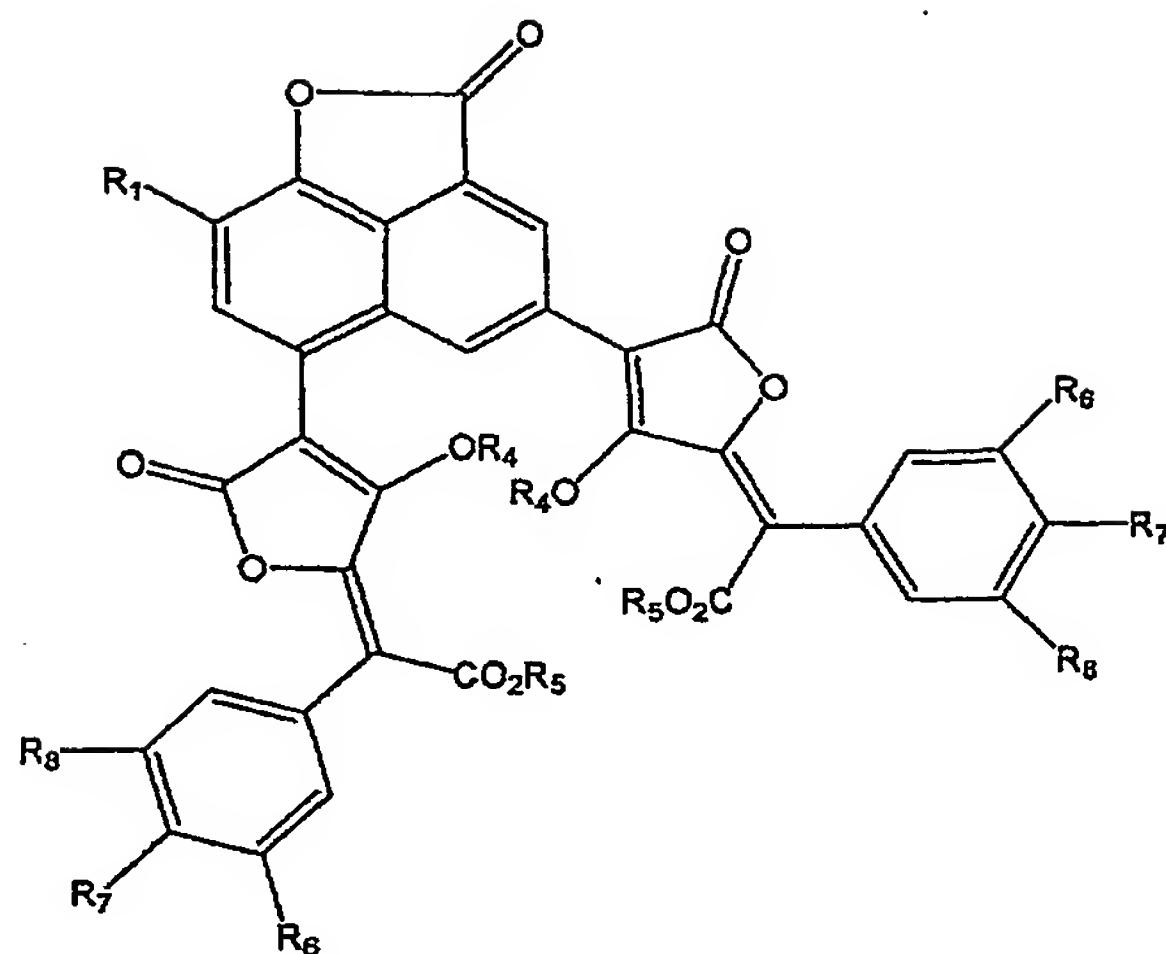
10 Ainsi, lorsque R_4 et R_5 représentent H dans le composé selon l'invention, les sels correspondants peuvent se présenter sous les formes suivantes :



A pouvant représenter un métal alcalin, tel que Na^+ , K^+ , un ammonium NH_4^+ .

5

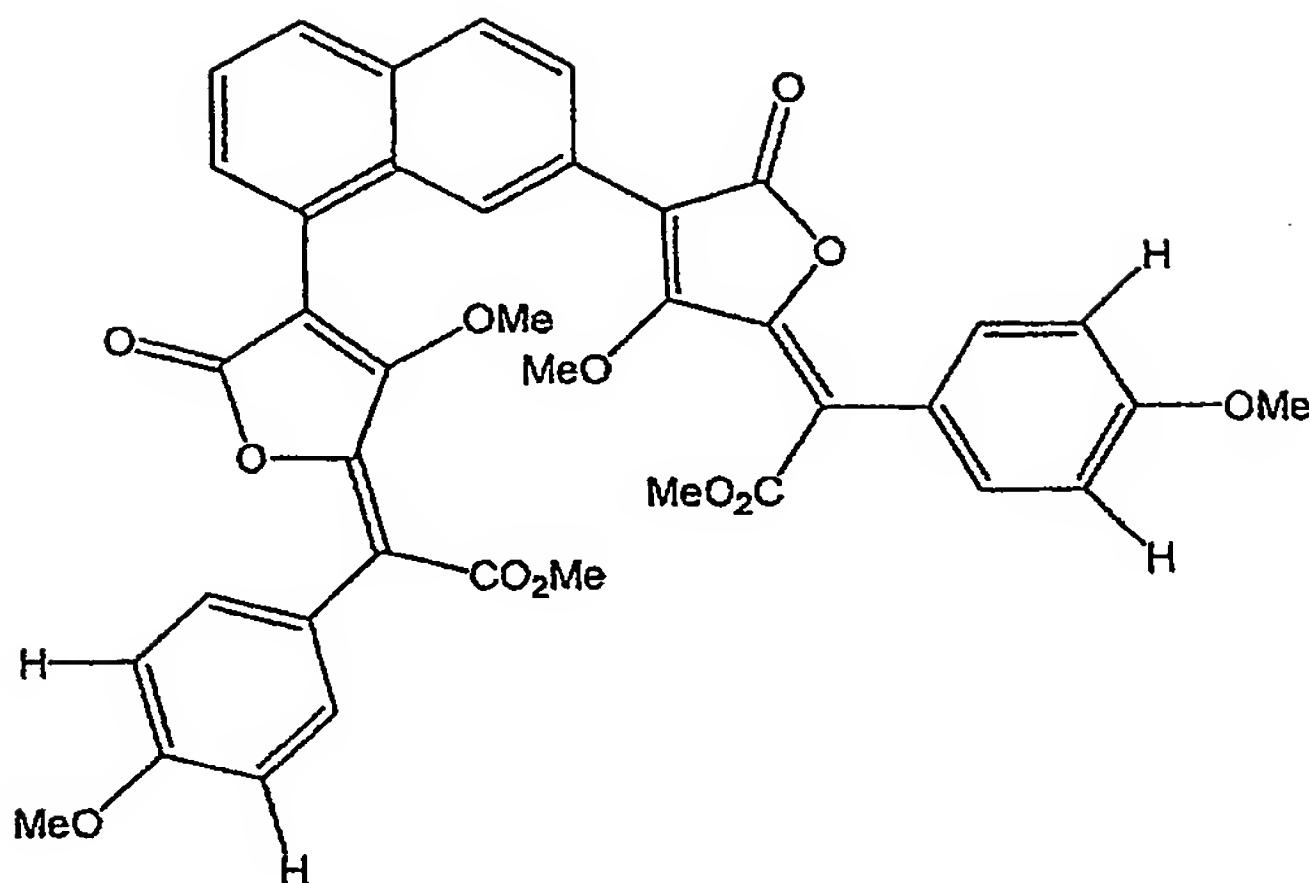
Dans la formule (I), lorsque R_2 et R_3 forment ensemble un groupement $-\text{O}-\text{CO}-$, le composé répond à la formule (II) suivante :



(II)

les R_1 , R_4 , R_5 , R_6 et R_8 répondant à la même définition que celle donnée précédemment. Ces composés, notamment de part la présence d'un motif cyclique central avec un cycle lactone se caractérisent par un pouvoir antioxydant particulièrement efficace.

10 Dans la formule (I), les R_2 et R_3 peuvent également former indépendamment des radicaux identiques ou différents, tels que des atomes d'hydrogène. A titre d'exemple, on peut citer le composé de formule (III) suivante :

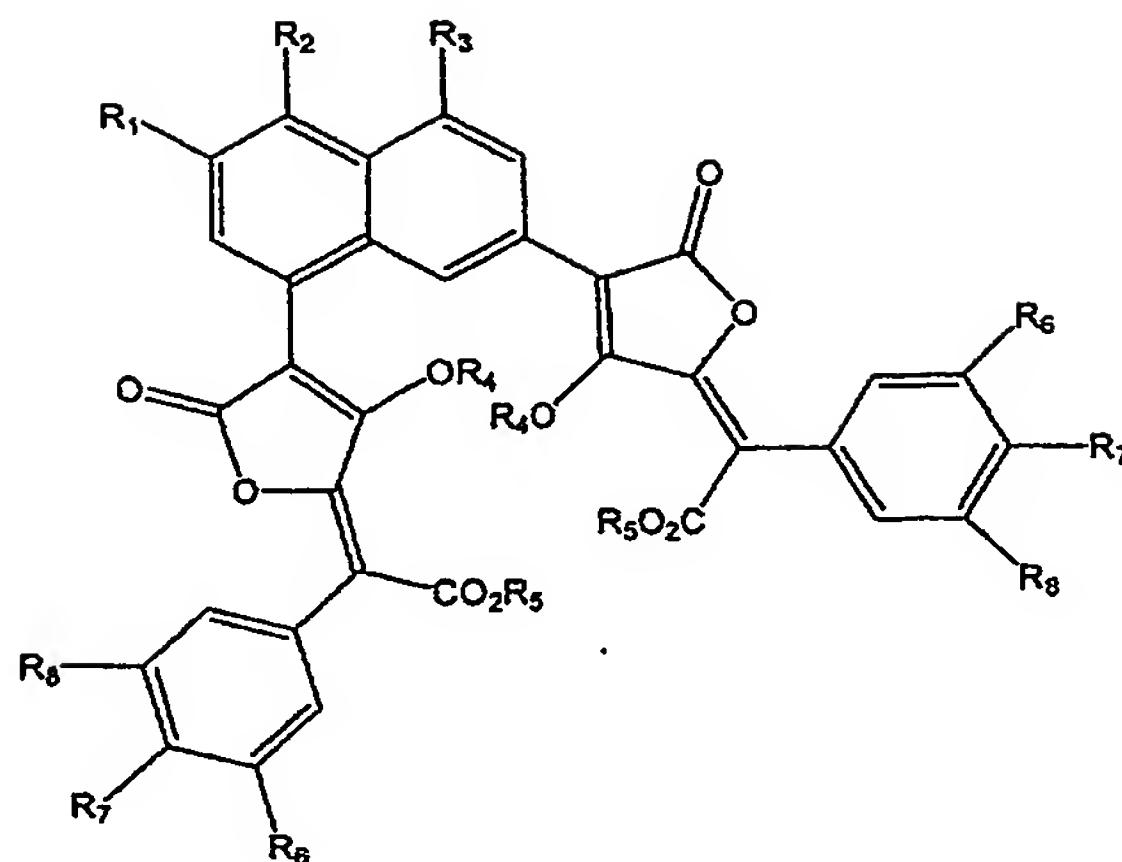


(III)

dans laquelle les R_1 , R_2 , R_3 , R_6 et R_8 représentent H, les 5 R_4 et R_5 représentent CH_3 (désigné par Me dans la formule ci-dessus), les R_7 représentent $-OCH_3$ (désigné par $-OMe$ dans la formule ci-dessus).

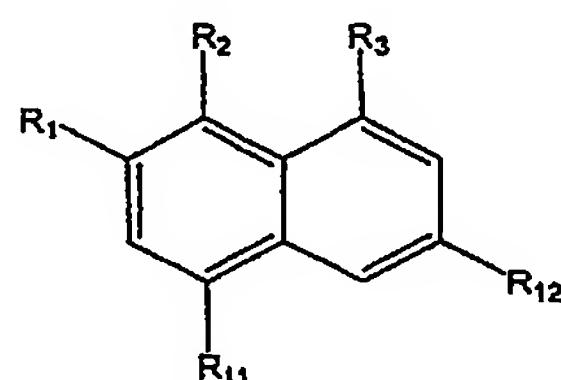
En ce qui concerne le groupe R_9 , représentant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone, on peut citer, à titre d'exemples, le 10 groupe méthyle, éthyle, n-propyle, n-butyle, t-butyle.

La présente invention a également pour objet un procédé de préparation de composés de formule (I) suivante :



(I)

dans laquelle les R_1 , R_6 , R_7 et R_8 , identiques ou
 5 différents, représentent H, -OH ou OR_9 , R_2 représente H,
 -OH ou $-OR_9$, R_3 représente H, R_9 , $-CO_2R_9$ ou $-CO-NH-R_{10}$ ou
 R_2 et R_3 forment ensemble un groupe $-O-CO-$, les R_4 et R_5 ,
 identiques ou différents, représentent H ou R_9 , R_9
 représentant un groupe alkyle linéaire ou ramifié
 10 comportant de 1 à 20 atomes de carbone, R_{10} représentant
 R_9 ou $-(CH_2)_a-NH-(CH_2)_b-NH_2$ avec a et b étant des entiers
 allant de 2 à 4, et leurs sels, ledit procédé
 consistant à faire réagir un composé de formule (IV)
 suivante :



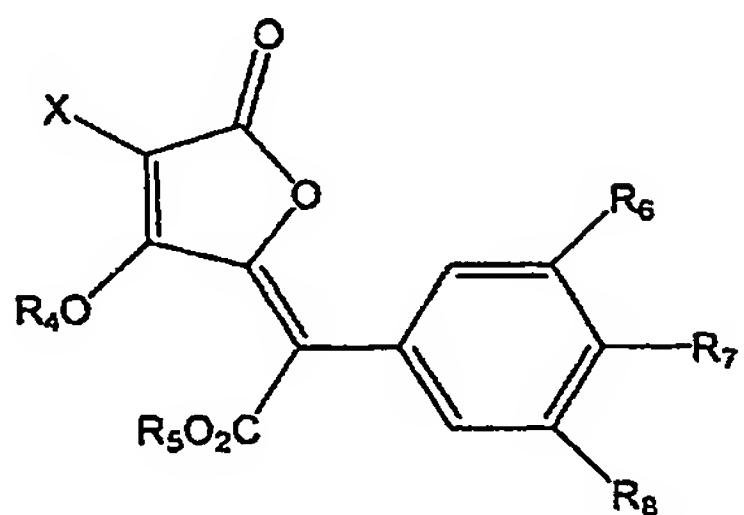
(IV)

15

dans lequel les R_1 , R_2 et R_3 ont la même définition que
 celle donnée précédemment, les R_{11} , R_{12} représentent -
 $B(OR_{13})(OR_{14})$ ou $-Sn(R_{15})_3$, les R_{13} et R_{14} , identiques ou

différents, représentent H ou un groupe alkyle de 1 à 7 atomes de carbone ou les R_{13} et R_{14} forment ensemble un groupe alkylène linéaire ou ramifié, R_{15} représente un groupe méthyle ou butyle,

5 avec un composé de formule (V) suivante :



(V)

les R_4 , R_5 , R_6 , R_7 et R_8 répondant à la même définition que celle donnée précédemment et X étant un groupe partant, ladite réaction s'effectuant en présence d'une base, d'un catalyseur à base de platine ou palladium et étant suivie éventuellement d'une étape de traitement destinée à obtenir les sels correspondants.

10 Lorsque R_{13} et R_{14} forment ensemble un groupe linéaire ou ramifié, ce groupe comprend, par exemple, de 2 à 3 atomes de carbone, tel que les groupes $-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-C(CH_3)_2-C(CH_3)_2-$, $-CH(Ph)-CH_2-CH(Ph)-$, Ph représentant un groupement phényle.

15 De préférence, le groupe partant X est choisi parmi le groupe comprenant les halogènes tels que F, Cl, Br, I, le triflate $-O-SO_2CF_3$.

20 Selon l'invention, le catalyseur à base de platine ou palladium est choisi de manière à obtenir une réaction de couplage entre le composé de formule (IV) et le composé de formule (V). De préférence, ce

catalyseur est un complexe de platine ou palladium, tel que le dichlorobis(triphénylphosphine)palladium $PdCl_2(PPh_3)_2$, le tétrakis(triphénylphosphine)palladium $Pd(PPh_3)_4$.

5 Selon l'invention, la base utilisée dans le cadre de ce procédé est une base choisie, par exemple, parmi $NaOH$, $Ba(OH)_2$, Na_2CO_3 , K_2CO_3 , Cs_2CO_3 , K_3PO_4 , CH_3COONa , CH_3COOK , CH_3ONa , CH_3CH_2ONa , les amines telles que la triéthylamine.

10

L'éventuelle étape destinée à obtenir les sels adéquats consiste, une fois le produit de formule (I) obtenu, à traiter ce produit, par exemple par une base minérale. Ainsi, lorsque les R_5 représentent H, un 15 traitement par une solution d'hydroxyde de potassium permet obtenir le disel de potassium correspondant, qui n'est autre qu'un dicarboxylate de potassium.

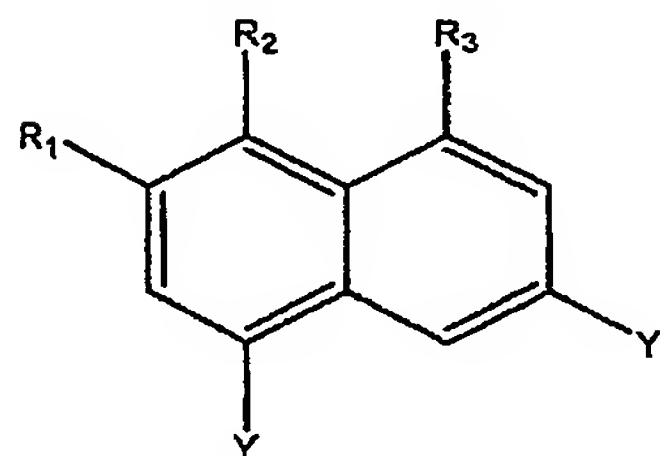
On note que le procédé selon l'invention peut comporter éventuellement des étapes de protection 20 des fonctions sensibles aux conditions réactionnelles, ces fonctions étant ensuite déprotégées en fin dudit procédé.

De manière plus détaillée, le procédé de 25 préparation des composés de formule (I) consiste, tout d'abord, à mélanger les réactifs répondant aux formules (IV) et (V) avec le catalyseur adéquat, dans un solvant aprotique, par exemple le tétrahydrofurane (THF), sous atmosphère de gaz inerte. Ensuite, après 30 homogénéisation du mélange réactionnel, on introduit une base, par exemple, du bicarbonate de sodium. Le

mélange réactionnel est ensuite porté à reflux sous agitation vigoureuse pendant une durée adéquate (c'est-à-dire la durée nécessaire à l'obtention du composé de formule (I), l'avancement de la réaction pouvant être suivi par des techniques classiques telles que la chromatographie sur couche mince). Le mélange réactionnel est alors traité par ajout d'eau. La phase aqueuse est extraite avec un solvant organique, par exemple du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées puis concentrées. Le produit obtenu est finalement purifié par des techniques classiques telles que la chromatographie sur colonne.

Le procédé de préparation des composés conformes à l'invention met en jeu des composés de formule (IV) et (V), qui peuvent être disponibles commercialement ou préparés avant la mise en œuvre du procédé de l'invention

Ainsi, le composé de formule (IV), avec R_{11} et R_{12} représentant $-B(OR_{13})(OR_{14})$, peut être obtenu en faisant réagir un composé dérivé du naphtalène de formule (VI) :

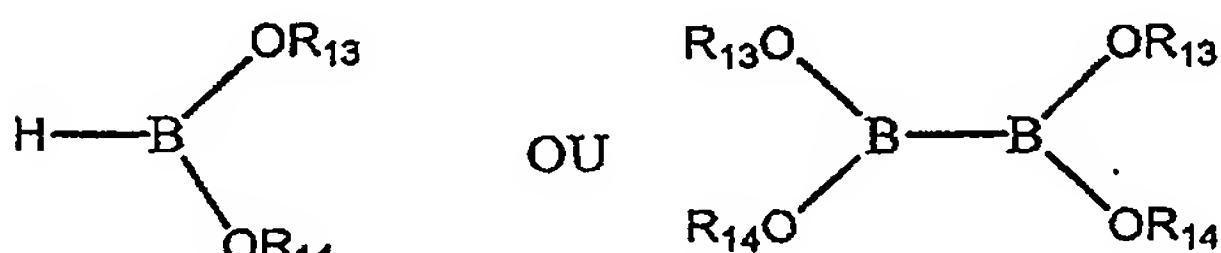


(VI)

25

les R_1 , R_2 et R_3 ayant la même définition que celle donnée précédemment et les Y identiques ou différents

étant des groupes partants choisis, par exemple, parmi les halogènes tels que le fluor, chlore, brome, iodé, le triflate $-O-SO_2-CF_3$, avec un composé boré de formules :

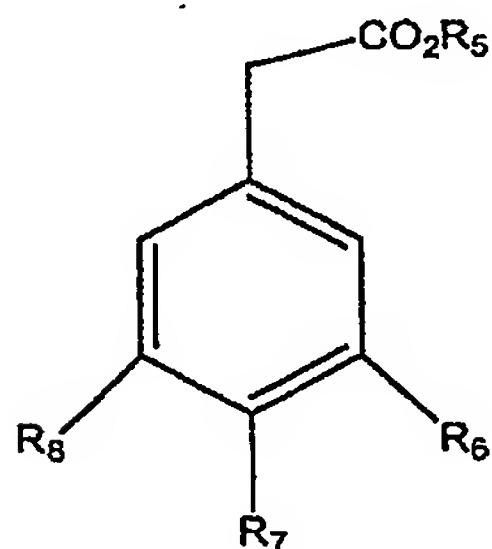


5

R_{13} et R_{14} ayant la même signification que celle donnée ci-dessus, ladite réaction s'effectuant en présence d'une base et d'un catalyseur à base de platine ou de palladium tel que le 1,1'-bis(diphénylphosphino)ferrocène dichloropalladium ou $PdCl_2(dppf)$, dppf signifiant le 1,1'-bis(diphénylphosphino)ferrocène.

Le composé de formule (V) peut être obtenu par un procédé comprenant la succession d'étapes suivantes :

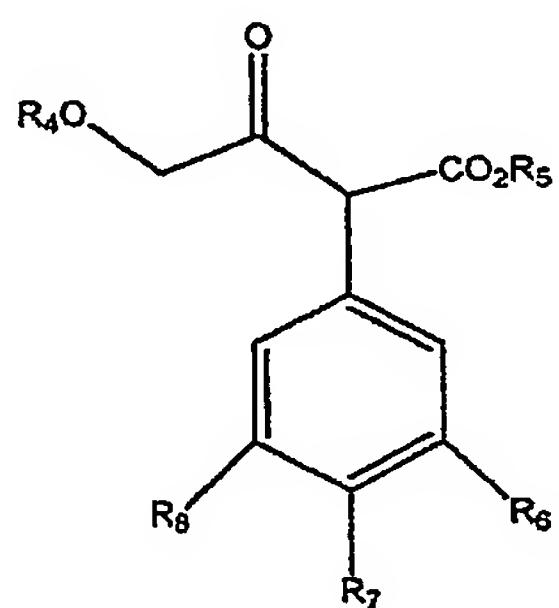
a) réaction d'un phénylacétate de formule (VII) suivante :



20

(VII)

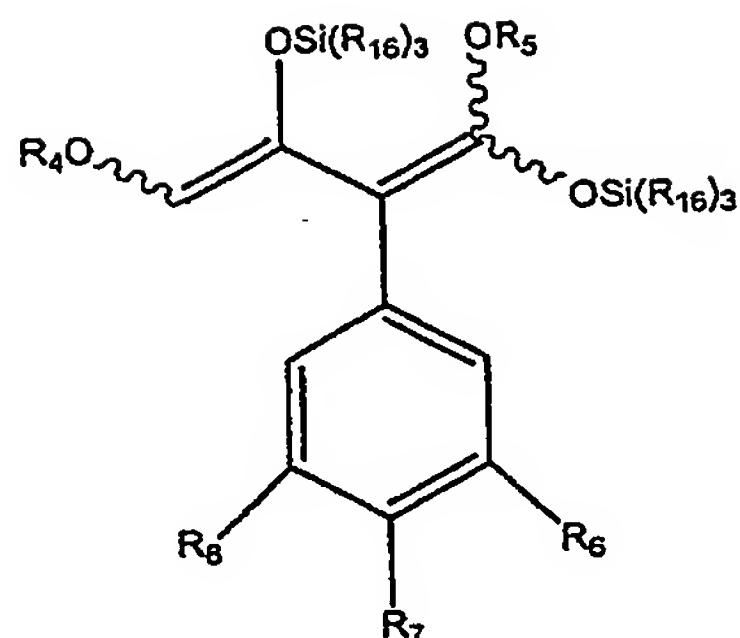
les R_5 , R_6 , R_7 et R_8 ayant la même définition que celle donnée précédemment, en milieu basique, avec un α -alcoxyacétate d'alkyle de formule $R_4O-CH_2-CO-OAlk$, R_4 répondant à la même définition que celle donnée précédemment, le groupement Alk étant un groupement alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone, pour former un composé de formule (VIII) suivante :



10

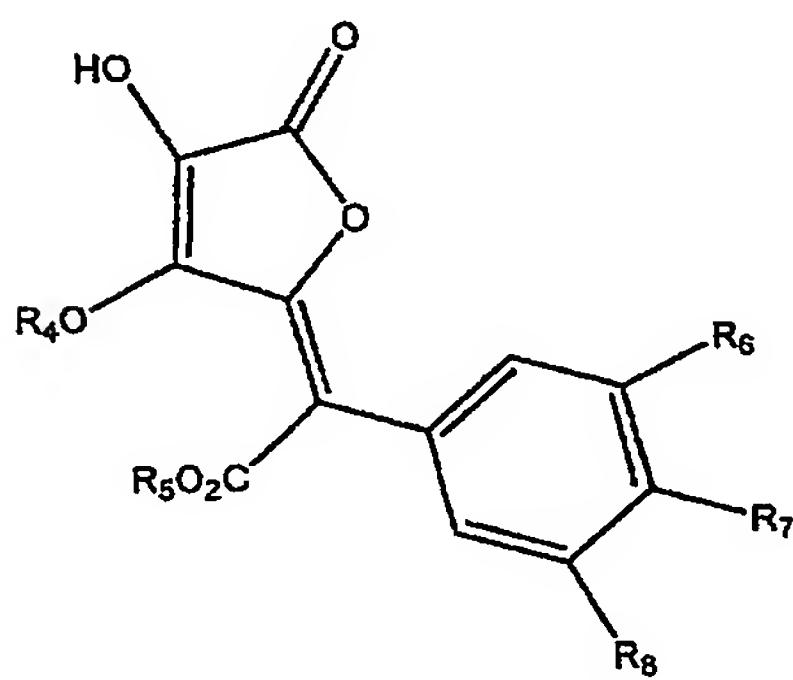
(VIII)

b) réaction du composé (VIII), en milieu basique avec un composé silylé de formule $(R_{16})_3SiHal$, R_{16} étant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 4 atomes de carbone, Hal étant un groupe halogène, tel que F, Cl, Br, I afin d'obtenir un composé disilylé de formule (IX) :



(IX)

c) réaction de cyclisation du composé (IX) avec le
5 chlorure d'oxalyle $(ClCO)_2$, pour former le composé de
formule (X) :



(X)

10 d) réaction du composé (X) avec un réactif apte à
former avec le -OH du cycle lactone un groupe partant X
afin d'obtenir le composé de formule (V).

A titre d'exemples, ce groupe partant X
peut être choisi parmi les groupes de formule $-O-SO_2-CF_3$
15 ou $-O-SO_2-(CF_2)_n-CF_3$ avec n étant un entier allant de 1
à 8.

On note que les composés comportant dans les formules ci-dessus, des liaisons symbolisées par :

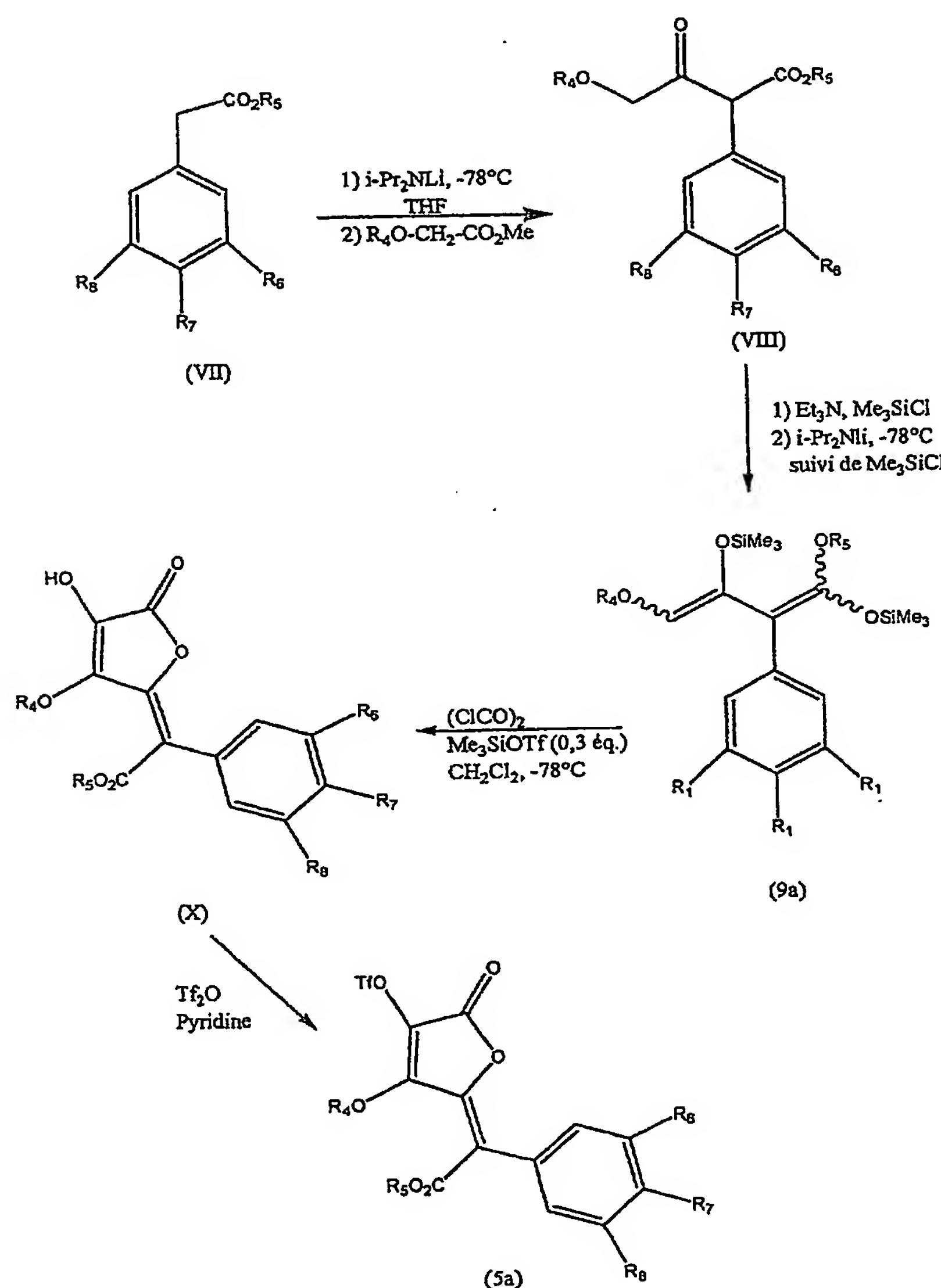
~~~

peuvent être utilisés dans le cadre de ce procédé sous 5 leurs différentes formes isomères.

Ainsi, dans l'étape a), la réaction s'effectue dans un milieu basique, ce milieu étant destiné à déprotoner le groupement  $-\text{CH}_2-$  situé en 10 position  $\alpha$  du groupement  $-\text{CO}_2\text{R}_5$  du composé (VII). Ce milieu basique peut être par exemple une solution de diisopropylamidure de lithium (ou LDA). L'espèce réactive ainsi formée peut se condenser avec l' $\alpha$ -alcoxyacétate d'alkyle pour donner le produit (VIII). 15 Les étapes b) et c), qui consistent à synthétiser un composé 1,3-bis(trialkylsiloxy)-1,3-butadiène (IX), suivi d'une cyclisation sont adaptées des travaux de Langer, tels que ceux explicités dans la publication « Domino Reaction of 1,3-bis(trimethylsilyloxy)-1,3- 20 dienes with Oxalyl Chloride : General and Stereoselective Synthesis of  $\gamma$ -Alkylidenebutenolides » P. Langer et al., Chem. Eur. J. 2000, 6, N°7, 3204-3214 [6].

Enfin, l'étape d) peut s'envisager selon 25 tout type de réactions à la portée de l'homme de l'art, lesdites réactions permettant de convertir le groupement  $-\text{OH}$  en groupement réactif tel qu'un triflate ou un fluoroalkylsulfonate  $-\text{SO}_2-(\text{CF}_2)_n-\text{CF}_3$  avec  $n$  étant un entier allant de 1 à 8.

A titre d'exemple, lorsque le groupe partant X est un groupe triflate (symbolisé par OTf), le composé faisant partie des composés de formule (V), référencé 5a, peut être synthétisé selon le schéma réactionnel particulier suivant :



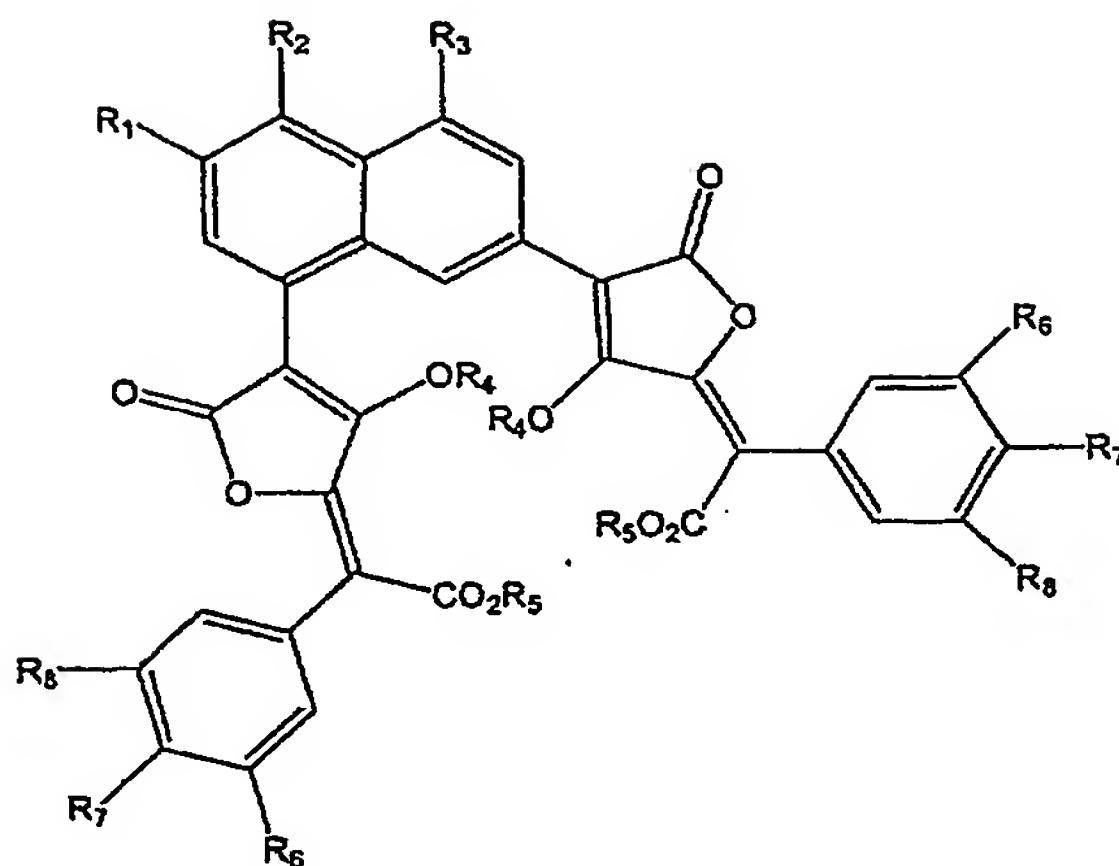
Selon ce schéma de synthèse particulier, le triflate (5a) est préparé à partir de l'alcool

correspondant (X) par traitement avec l'anhydride triflique ( $\text{Tf}_2\text{O}$ ), en présence d'une base telle que la pyridine. L'alcool (X) provient de la réaction d'un 1,3-bis(triméthylsiloxy)-1,3-butadiène (9a) convenablement substitué avec le chlorure d'oxalyle, catalysée par du triflate de méthyle. Cette réaction de cyclisation, ainsi que la préparation du 1,3-bis(triméthylsiloxy)-1,3-butadiène (9a) sont adaptés des travaux de Langer, tels que ceux mentionnés ci-dessus. Le  $\beta$ -cétoester (VIII) précurseur du 1,3-bis(triméthylsiloxy)-1,3-butadiène (9a) est obtenu par réaction de l'énolate lithié formé à partir du phénylacétate correspondant (VII) avec un  $\alpha$ -alcoxyacétate de méthyle.

15

Les composés selon la présente invention peuvent être utilisés en particulier pour leur activité antioxydante.

Ainsi, la présente invention a également pour objet des agents antioxydants de formule (I) suivante :

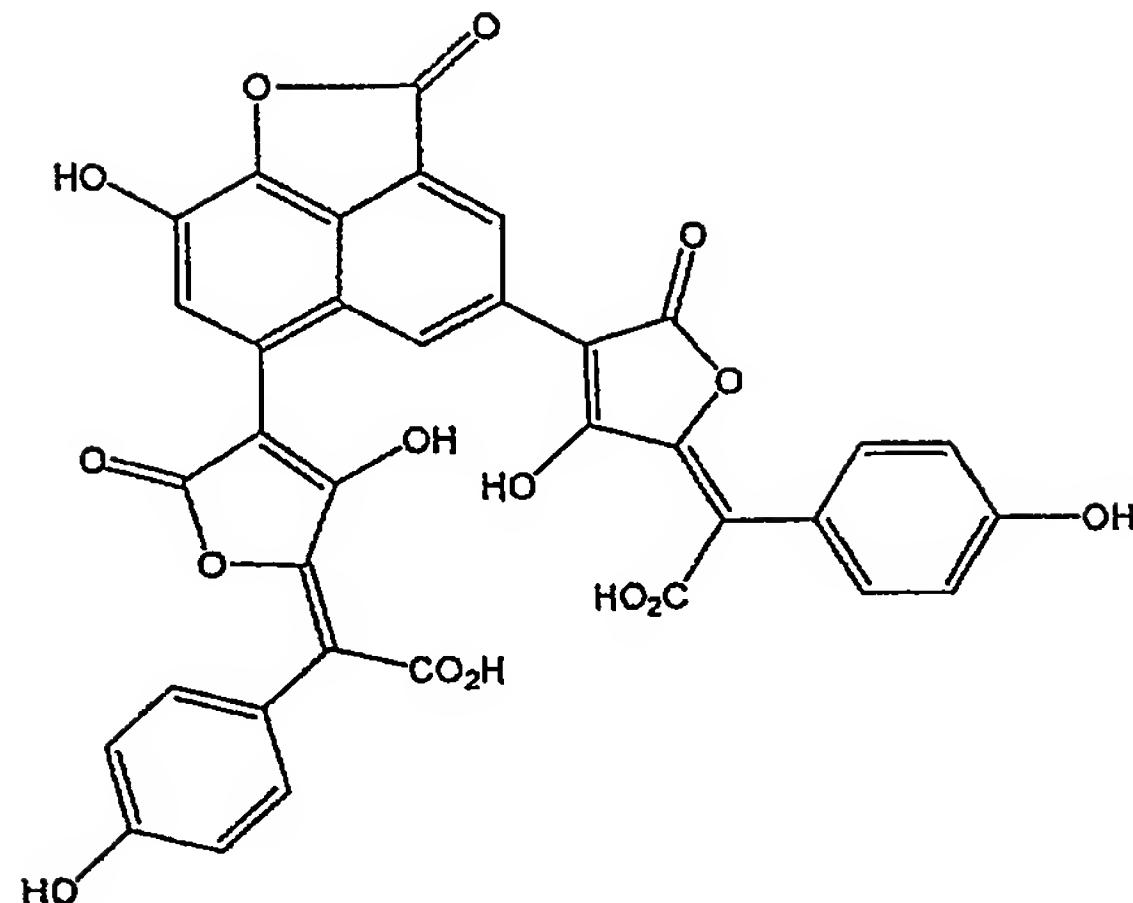


(I)

dans laquelle les  $R_1$ ,  $R_6$ ,  $R_7$  et  $R_8$ , identiques ou différents, représentent H, -OH ou  $OR_9$ ,  $R_2$  représente H, -OH ou  $OR_9$ ,  $R_3$  représente H,  $R_9$ ,  $-CO_2R_9$  ou  $-CO-NHR_{10}$ , ou  $R_2$  et  $R_3$  forment ensemble un groupe  $-O-CO-$ , les  $R_4$  et  $R_5$ , identiques ou différents, représentent H ou  $R_9$ ,  $R_9$  représentant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone,  $R_{10}$  représentant  $R_9$  ou  $-(CH_2)_a-NH-(CH_2)_b-NH_2$  avec  $a$  et  $b$  étant des entiers allant de 2 à 4, et leurs sels.

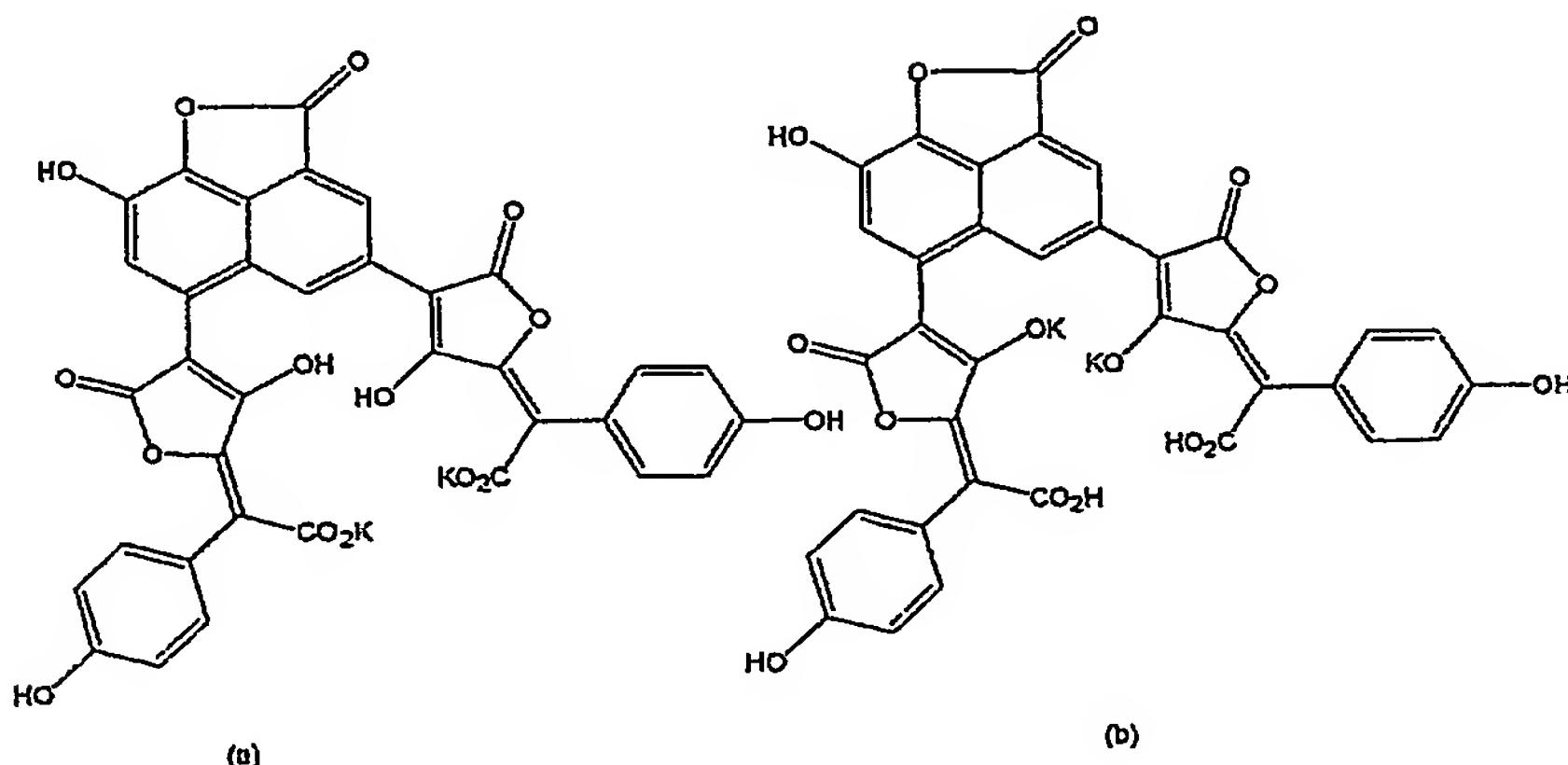
Lorsque  $R_2$  et  $R_3$  forment ensemble  $-O-CO-$ , l'agent antioxydant présente une structure chimique identique à celle du composé de formule (II) définie ci-dessus.

Parmi ces agents de formule (II), on peut citer l'agent connu sous la terminologie de norbadione A, pour laquelle les  $R_1$  et  $R_7$  représentent -OH, les  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  et  $R_8$  représentent H. La norbadione A peut être représentée par la formule (XI) suivante :



(XI)

On peut citer également, parmi les agents  
 5 antioxydants selon l'invention, la norbadione A sous  
 forme de disel potassique, qui peut être ainsi  
 représentée par la formule (XII) suivante (présentant  
 deux formes (a) et (b)) :



(XII)

La norbadione A est un produit naturel, qui a été extrait à ce jour de deux espèces de champignons. Elle constitue l'un des pigments du chapeau du bolet bai (*Xerocomus badius*), qui est une espèce comestible très appréciée, tel que cela est décrit dans l'article « Pigments from the cap cuticle of the Bay Boletus », Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 23 (1984), n°6 [4]. On la trouve également dans le pisolithé des sables (*Pisolithus tinctorius*), comme l'indique l'article intitulé « A naphtalenoid pulvinic acid derivative from the Fungus *Pisolithus Tinctorius* », Phytochemistry, vol 24, n°6, pp 1351-1354, 1985 [5].

La norbadione A est extraite de ces champignons sous forme de disel de potassium (formule XII) et peut être convertie en le diacide correspondant (formule XI) par traitement avec une solution d'acide chlorhydrique.

Grâce à leurs propriétés antioxydantes particulièrement efficaces, ces agents antioxydants de formule (I) peuvent entrer dans des compositions pharmaceutiques, comprenant au moins un des agents antioxydants selon l'invention et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

On entend par véhicule pharmaceutiquement acceptable un matériel, qui peut être administré à un individu en même temps que l'agent antioxydant et qui ne comporte pas d'effet biologique indésirable.

Ces compositions peuvent être utilisées pour le traitement des maladies découlant d'un stress oxydant.

Ainsi, ces compositions pharmaceutiques comprenant les agents selon l'invention peuvent être utilisées pour le traitement de maladies inflammatoires, en particulier les maladies se traduisant, en réaction à un allergisant, par la production de cytokines.

Par exemple, des compositions pharmaceutiques comprenant de la norbadione sous forme de diacide (formule XI) ou de disel (formule XII) contribuent, de façon dose-dépendante à diminuer la production de cytokines TNF- $\alpha$  et IL-10 d'un hôte infecté par un allergisant tel qu'un liposaccharide, ce qui montre que les agents antioxydants, selon la présente invention, présentent une activité anti-inflammatoire.

Ces compositions pharmaceutiques peuvent être également utilisées pour assurer un effet protecteur de cellules vis-à-vis d'une apoptose consécutive à une accumulation de radicaux libres au sein desdites cellules.

Ainsi, ces compositions peuvent être utilisées pour le maintien en survie de cellules soumises à un rayonnement ionisant induisant la production de radicaux libres.

De ce fait, ces compositions sont aptes à contrer les effets d'un rayonnement ionisant ou d'un rayonnement ultra-violet envers des cellules soumises audit rayonnement, du fait que les agents antioxydants selon la présente invention incorporés dans ces

compositions captent les radicaux formés par action dudit rayonnement sur ces cellules.

5 Ces compositions peuvent également être utilisées pour le maintien en survie de cellules saines soumises à l'action de médicaments induisant la production de radicaux libres.

De ce fait, ces compositions peuvent atténuer la cytotoxicité de médicaments, engendrant par leurs effets secondaires, un stress oxydant.

10 De plus amples détails concernant l'activité de ces compositions incorporant des agents selon l'invention tels que mentionnés ci-dessus seront explicités dans la partie détaillée de la description.

15 La présente invention a également pour objet des compositions cosmétiques incorporant au moins un agent antioxydant selon l'invention, ladite composition comprenant, en outre un véhicule cosmétiquement acceptable.

20 Ces compositions cosmétiques peuvent se présenter sous différentes formes, telles que des crèmes, huiles..., destinées à un usage topique cutané, le rôle des agents antioxydants étant de piéger les radicaux libres au niveau de la surface cutanée sur 25 laquelle est appliquée la composition cosmétique. Les compositions selon l'invention contribuent ainsi à ralentir le processus de vieillissement cutané, engendré notamment par l'accumulation de radicaux libres.

Enfin, la présente invention a pour objet des compositions alimentaires, comprenant en tant qu'additifs au moins un agent antioxydant selon l'invention. Les agents antioxydants selon la présente invention peuvent être utilisés, en particulier, en tant qu'additifs dans des compositions alimentaires aptes à produire facilement des radicaux libres, tels que les huiles, le beurre.

Des agents antioxydants particulièrement efficaces pouvant entrer dans les compositions pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, correspondent aux agents de formule (XI) ou (XII), tel que définis ci-dessus.

15

D'autres avantages et caractéristiques de la présente invention apparaîtront encore à la lecture de la description qui suit, donnée à titre illustratif et non limitatif en référence aux dessins annexés.

20

#### **Brève description des dessins.**

- les figures 1, 2 et 3 sont des graphiques illustrant l'activité antioxydante de la norbadione A sous forme de disel potassique vis-à-vis d'antioxydants classiques par suivi de la dégradation de la thymidine soumise à un stress oxydant de nature radiative (rayons  $\gamma$  émis par le  $^{137}\text{Cs}$  sur la figure 1 ou rayons UV sur la figure 2) ou chimique (figure 3) ;

- les figures 4 et 5 sont des graphiques illustrant l'effet antiinflammatoire de la norbadione A sous forme de diacide (figures 4) ou de disel potassique (figures 5) par mesure de la production de certaines cytokines par des cellules soumises à un allergisant ;
- la figure 6 est un graphique illustrant l'activité protectrice de la norbadione A sous forme de diacide ou de disel vis-à-vis de cellules soumises à un rayonnement ionisant ;
- la figure 7 est un graphique illustrant l'activité protectrice de la norbadione A sous forme de diacide ou de disel vis-à-vis de cellules soumises à l'action du cisplatine ;
- la figure 8 est un graphique qui représente la contraction vasculaire d'anneaux d'aorte de rat C(g) (g signifiant gramme) en fonction de la concentration en pyrrogallol [Pyr] ( $\mu$ M), en l'absence de norbadione A et en présence de norbadione A 100  $\mu$ M ;
- la figure 9 est un graphique représentant le taux de relaxation vasculaire des anneaux R(%) en fonction de la concentration en Sin-1 [Sin-1] ( $\mu$ M) en l'absence de norbadione A et en présence de norbadione A 100  $\mu$ M).

#### EXPOSE DETAILLE DE L'INVENTION

Les exemples 1 à 5 illustrent les propriétés de la norbadione A sous forme de diacide ou de disel, découlant de leur activité antioxydantes.

L'exemple 6 illustre un exemple de synthèse totale d'un composé de formule (III) présentant également une activité antioxydante.

5 Exemple 1. Evaluation de l'activité antioxydante de la norbadione A.

L'évaluation de l'activité antioxydante du disel potassique de la norbadione A a été effectuée 10 par un test de criblage *in vitro*.

Ce test est basé sur le suivi de la dégradation de la thymidine soumise à différents stress oxydants en présence de différents agents antioxydants, qui sont la norbadione A sous forme de disel potassique 15 (intitulée Nor-B sur les figures 1 à 3) conforme à l'invention, et les agents antioxydants suivants : quercétine (1), fisétine (2), myricétine (3), catéchine (4), 7-hydroxy-4-méthyl-8-nitrocoumarine (5), Trolox (6) sur les figures 1 à 3.

20 En présence d'un antioxydant, la thymidine est protégée de manière plus ou moins efficace selon la nature dudit antioxydant. L'efficacité de l'antioxydant est quantifiée en dosant la thymidine restante (quantifiée en % en ordonnée du graphique) à l'aide 25 d'un dosage immunoenzymatique, du type ELISA dit « par compétition ». Ce dosage ELISA consiste à réaliser une compétition de liaison à un anticorps monoclonal spécifique de la thymidine fixé sur une phase solide, entre la thymidine restante à la fin du test et la 30 thymidine marquée par une enzyme (l'acétylcholine estérase). Après lavage, l'enzyme fixée est quantifiée

par détection colorimétrique à l'aide du diacide 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoïque) (dit réactif d'Ellman) et en présence d'acétylcholine.

Trois séries de tests ont été mises en 5 œuvre :

- une première série consistant à doser la thymidine restante suite à une irradiation gamma (pendant 3H30) induite par du césium 137, ladite thymidine étant présente en début de test à une 10 concentration de 15  $\mu\text{M}$  avec une concentration d'antioxydant de 12  $\mu\text{M}$  (figure 1) ;

- une deuxième série consistant à doser la thymidine restante suite à une irradiation ultraviolette à 254 nm (1,75J/cm<sup>2</sup> en présence de  $\text{H}_2\text{O}_2$  5mM, ladite thymidine étant présente en début de test à une concentration de 70  $\mu\text{M}$  avec une concentration d'antioxydant de 100  $\mu\text{M}$  (figure 2) ;

- une troisième série consistant à doser la thymidine restante soumise à un stress chimique oxydant (réactif de Fenton  $\text{FeSO}_4/\text{EDTA}$  0,35mM en présence de  $\text{H}_2\text{O}_2$  35mM), ladite thymidine étant présente en début de test à une concentration de 70  $\mu\text{M}$  avec une concentration d'antioxydant de 20  $\mu\text{M}$  (figure 3).

Les résultats de ces tests sont regroupés 25 respectivement, pour la première série sur la figure 1, pour la deuxième série sur la figure 2, pour la troisième série sur la figure 3.

Les figures 1 à 3 montrent explicitement que la norbadione A présente le meilleur pouvoir 30 antioxydant (ce dernier étant quantifié par la mesure du pourcentage de thymidine restante après action du

stress oxydant, % représenté en ordonnée des graphiques des figures 1 à 3) par comparaison, par exemple, avec la quercétine (1) issue du thé ou du vin réputée pour sa propriété antioxydante puissante et par comparaisons 5 avec les autres agents antioxydants classiques (2), (3), (4), (5) et (6).

EXEMPLE 2. Evaluation du pouvoir anti-inflammatoire de  
10 la norbadione.

Dans cet exemple, on démontre l'effet biologique antiinflammatoire induit par l'activité antioxydante de la norbadione A sous forme de diacide 15 ou de disel potassique, en détectant les cytokines produites par des cellules de type monocytes lors d'un traitement par un liposaccharide allergisant. Ce liposaccharide est une endotoxine située sur la membrane externe des bactéries Gram-négatives. En 20 particulier, il stimule la production de cytokines pro-inflammatoires par les cellules mononucléaires (monocytes, macrophages) de l'hôte infecté.

Si en présence du produit à tester, une modification de la production des cytokines est mise en 25 évidence, on en déduit que le produit présente un activité anti-inflammatoire.

Ce test est effectué de la façon suivante. Des cellules sanguines humaines de donneurs sains 30 (dites PBMC pour 'peripheral blood mononuclear cells') sont incubées avec la norbadione A ou B à des

concentrations croissantes (de  $10^{-8}$  M à  $10^{-5}$  M) avec ou activation simultanée par le lipopolysaccharide de *Salmonella abortus equi* à la concentration de  $5 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ , dans des plaques de culture de 24 puits, pendant 24 heures à  $37^\circ\text{C}$ , dans une atmosphère humidifiée de 5% en  $\text{CO}_2$  et 95% en air. Après incubation, le surnageant est enlevé et stocké à  $-20^\circ\text{C}$  jusqu'à réalisation du test.

Plus précisément, la détection des cytokines présentes dans les échantillons est mesurée à l'aide d'un dosage ELISA cytométrique de type « sandwich ». Des microparticules (billes) de polystyrène (de 6 types différents, chacunes étant marquées par une quantité différente de colorant fluorescent dont la longueur d'onde d'émission FL-3 est d'environ 650 nm) sont couplées à un anticorps spécifique de l'une des 2 cytokines TNF $\alpha$ , IL-2, IL-10. On obtient ainsi des anticorps de type Ac-PS. Lors de l'incubation, les cytokines présentes dans l'échantillon se lient aux anticorps Ac-PS. Les cytokines capturées sont détectées à l'aide d'un test immunologique mené directement, qui utilise 2 anticorps spécifiques de chaque cytokine couplés à de la phycoérythrine qui émet à une longueur d'onde FL-2 d'environ 585 nm (Ac-PE). Après lavage de l'excès de Ac-PE, la présence des cytokines est mesurée par cytométrie en flux.

On mesure la fluorescence selon les 6 intensités de fluorescence FL-3 et selon la longueur d'onde FL-2. L'intensité de la fluorescence FL-2 permet de déterminer la quantité de chaque cytokine présente

dans l'échantillon (par comparaison avec des courbes standards).

De plus amples informations concernant cette technique sont disponibles dans l'article de Cook 5 et al, Journal of Immunological Methods, 2001, 254, pages 109-118 [7]

Les résultats de ces tests sont regroupés sur les figures 4 à 5 qui représentent le pourcentage de réponse noté % (c'est-à-dire la quantité de 10 cytokine observée par rapport à la quantité observée lors d'un contrôle où le produit n'a pas été ajouté) en fonction de la concentration (en nM) de norbadione A sous forme de diacide ou de disel potassique, noté [Nor-A] ou [Nor-B] sur lesdites figures.

15 En présence de norbadione sous forme de diacide (Nor-A) (figure 4), ou de norbadione sous forme de disel potassique, (Nor-B) (figure 5), les tests ont mis en évidence une réduction significative dose-dépendante de la production de cytokines TNF- $\alpha$  et IL-20, ce qui prouve l'effet anti-inflammatoire de la 20 norbadione.

EXEMPLE 3. Evaluation de l'activité de protection des 25 cellules par la norbadione, lesdites cellules étant soumises à un rayonnement ionisant.

Ce test consiste à mesurer, en présence ou en l'absence de la norbadione sous forme A sous forme de diacide ou de disel potassique, le taux de survie de 30 cellules traitées par un rayonnement ionisant, à l'aide

d'indicateurs sélectifs de certains organites cellulaires tels que les mitochondries.

Des échantillons de norbadione sous forme A ou B sont ajoutés à des cultures de cellules RDM4 (lymphomes de souris AKR) à des concentrations croissantes (de 0,12 à 20 µg/mL), deux heures avant l'irradiation. Celle-ci est réalisée par exposition de plaques microtests contenant les cellules à des rayons X de 15 MV, à 8 Gy, le milieu de culture étant inchangé.

Le nombre de cellules vivantes est déterminé au sixième jour au moyen du test Uptiblue (qui consiste à mesurer l'activité mitochondriale des cellules). Le réactif Uptiblue (réazurine, encore commercialisé sous la marque ALAMAR BLUE) est un indicateur coloré d'oxydoréduction. La réazurine (bleue et non fluorescente) est réduite en résorufine (rose et fluorescente) par les cellules vivantes.

Expérimentalement, l'Uptiblue (dilué au 1/4 dans le milieu de culture) est ajouté aux cellules à raison de 20 µL par puits de 200 µL. Après une incubation de 4 heures à 37°C, on mesure la fluorescence à une longueur d'onde de 590 nm, après excitation à une longueur d'onde de 530 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques en fluorescence (Fluorolite 1000, Dynex). L'intensité de fluorescence est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Elle est exprimée en « unité arbitraire de fluorescence ». Cette valeur dépend du réglage de l'appareil (notamment de la tension) et du bruit de

fond (du à la fluorescence émise par des puits ne contenant pas de cellules, mais contenant de l'Utpiblue). Cette dernière valeur est soustraite des valeurs expérimentales.

5 Les résultats de ce test sont regroupés sur la figure 6, qui représente la fluorescence observée permettant de quantifier le nombre de cellules vivantes, ladite fluorescence étant exprimée en unités arbitraires de fluorescence en ordonnée du graphique en 10 fonction de la concentration en norbadione A sous forme de diacide ou de disel potassique, notée [Nor-A] ou [Nor-B] (en  $\mu\text{g/mL}$ ). Sur cette figure, on constate une forte augmentation du nombre de cellules vivantes en fonction de la concentration de la norbadione.

15 Cependant, à partir d'une concentration en norbadione de  $20 \mu\text{g/mL}$ , cette valeur diminue fortement.

On en déduit ainsi, que la nordadione, sous sa forme de disel ou de diacide, protège les cellules contre les rayonnements ionisants, de manière 20 significative et dose-dépendante.

On peut noter que, sans irradiation, la norbadione A est sans effet sur la croissance et la viabilité des cellules RDM4, même à  $20 \mu\text{g/mL}$ .

25 EXEMPLE 4. Evaluation de l'activité de protection des cellules par la norbadione, lesdites cellules étant soumises à l'action du cisplatine.

30 Ce test consiste à mesurer, en présence de norbadione A sous forme de diacide ou de disel

potassique, le taux de survie de cellules traitées par le cisplatine.

Des cellules  $K_1$  de carcinomes thyroïdiens humains sont cultivées dans des plaques microtest de 96 puits à fond plat en présence d'une concentration unique (20  $\mu\text{g/mL}$ ) de norbadione A sous forme de diacide ou de disel potassique. Après deux heures, un agent génotoxique, le cisplatine, est ajouté au milieu de culture à des concentrations croissantes (de 12 à 100  $\mu\text{M}$ ). Deux jours plus tard, le nombre de cellules est déterminé au moyen du test à la sulforhodamine B (dite SRB), qui mesure la quantité de protéines cellulaires.

La sulforhodamine B (dite SRB) est un colorant anionique se fixant de façon électrostatique aux protéines cellulaires. Ce test est fréquemment utilisé pour l'évaluation des activités cytotoxiques et cytostatiques de nouvelles drogues antitumorales.

De plus amples informations concernant cette technique sont disponibles dans l'article de Papazisis et col « Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay », J.Immunol.Meth, 208, pages 151-158; 1997 [8].

Les résultats de ce test sont regroupés sur la figure 7, qui représente la fluorescence observée près addition de SRB (exprimée en unités arbitraires de fluorescence) en fonction de la concentration en cisplatine (en  $\mu\text{M}$ ).

D'après cette figure, l'on peut constater que la cytotoxicité du cisplatine est très nettement atténuée par la présence de norbadione sous forme de disel (courbe a) ou de diacide (courbe b), par rapport

au cas où la cytotoxicité du cisplatine est évaluée en l'absence de norbadione (courbes c et d).

Cette activité de protection des cellules vis-à-vis du cisplatine découle de l'activité 5 antioxydante de la norbadione.

EXEMPLE 5 - Effets de la norbadione sur les anneaux d'aorte de rat.

10 Cet exemple a pour objectif de montrer l'activité antioxydante de la norbadione A sous forme de disel potassique sur les anneaux d'aorte de rat.

15 Ces séries de tests mettent en évidence l'activité antioxydante de la norbadione A sur les anneaux d'aorte de rat.

20 Au cours d'une première série de tests, on soumet, dans un premier temps, des anneaux d'aorte de rat, au pyrogallol, générateur de radicaux superoxydes, ces radicaux induisant une contraction des anneaux d'aorte de rat et on mesure, en l'absence de norbadione le taux de contraction de ces anneaux.

25 Dans un deuxième temps, on réitère les mêmes opérations, dans les mêmes conditions que celles mentionnées ci-dessus, cette fois en présence de norbadione.

30 Les résultats sont regroupés sur la figure 8, qui représente le taux de contraction vasculaire des anneaux C(g) en fonction de la concentration en pyrogallol [Pyr] ( $\mu$ M), en l'absence de norbadione A

(courbe a) et en présence de norbadione A à la concentration de 100  $\mu\text{M}$  (courbe b).

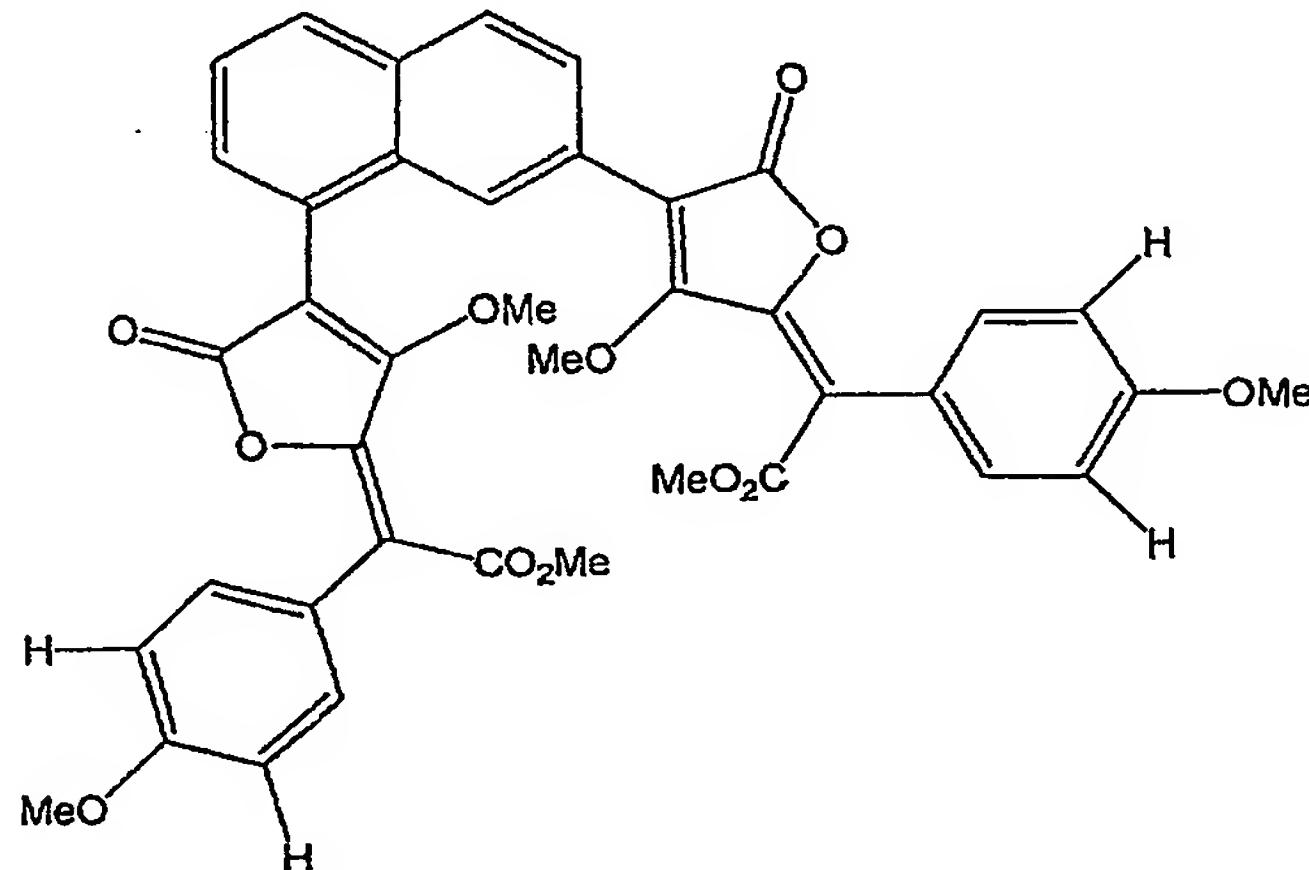
L'on constate que la courbe (a) est située au-dessus de la courbe (b), ce qui signifie que la contraction des anneaux d'aorte provoquée par le pyrogallol est supprimée en présence de norbadione A, du fait que la norbadione capte les espèces oxygénées réactives radicalaires engendrées par le pyrogallol.

Au cours d'une deuxième série de tests, on soumet des anneaux d'aorte de rat, au SYN-1 (3-morpholino-syndromimique), générateur de radicaux NO, induisant une relaxation des anneaux d'aorte de rat et on mesure le taux de relaxation de ces anneaux. En présence de norbadione, on mesure, dans les mêmes conditions que celles mentionnées ci-dessus, le taux de relaxation des anneaux. Les résultats sont reportés sur la figure 9, qui représente le taux de relaxation vasculaire des anneaux R(%) en fonction de la concentration en Sin-1 [Sin-1] ( $\mu\text{M}$ ) en l'absence de norbadione A (courbe a) et en présence de norbadione A 100  $\mu\text{M}$  (courbe b).

L'on constate que la courbe (a) est située en-dessous de la courbe (b), ce qui signifie que la relaxation des anneaux d'aorte provoquée par le SYN-1 est amoindrie en présence de norbadione, du fait que la norbadione capte partiellement les radicaux NO.

EXEMPLE 6-Préparation du composé de formule (III)

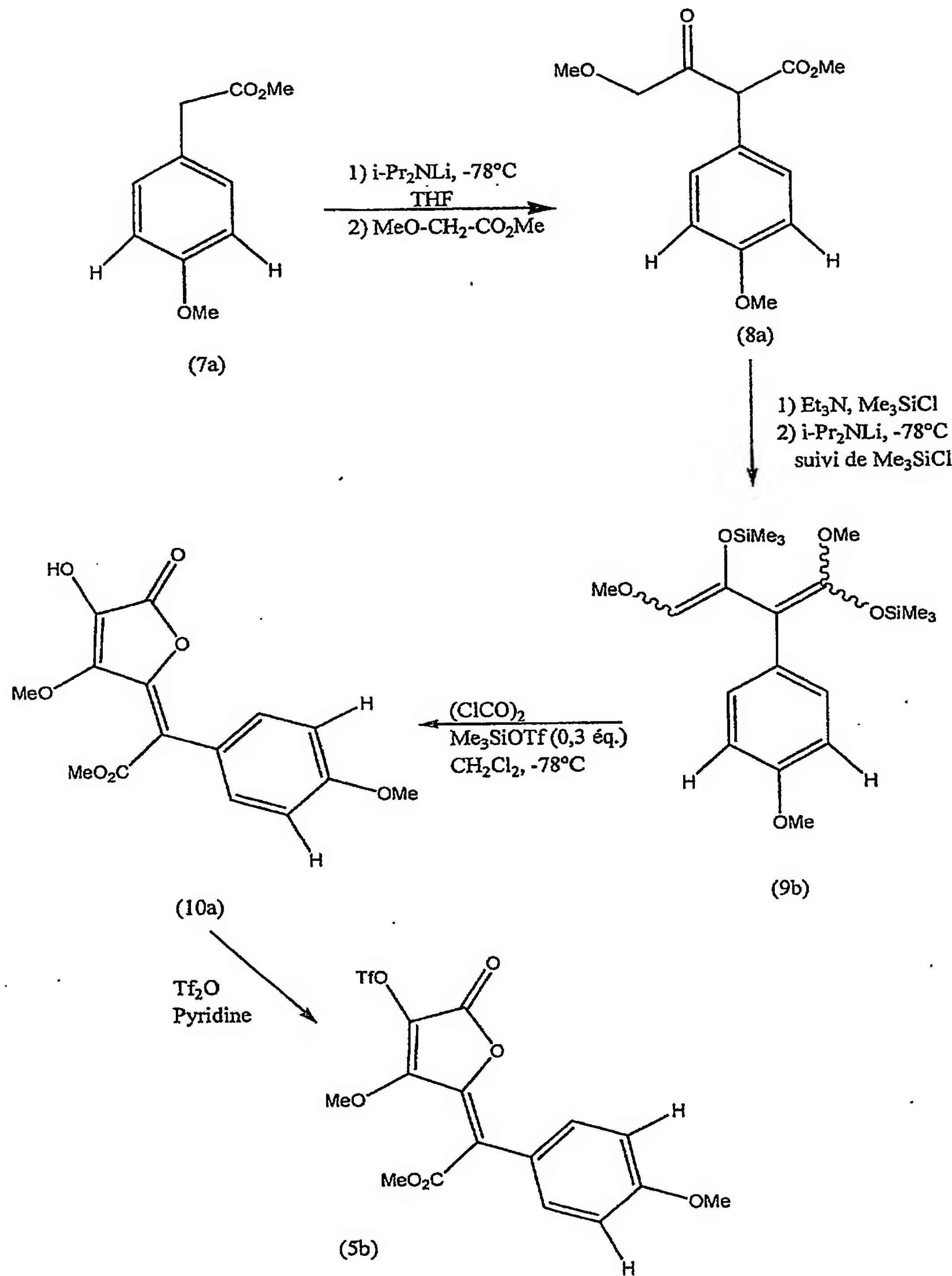
Cet exemple présente un exemple de préparation d'un composé de formule (III) :



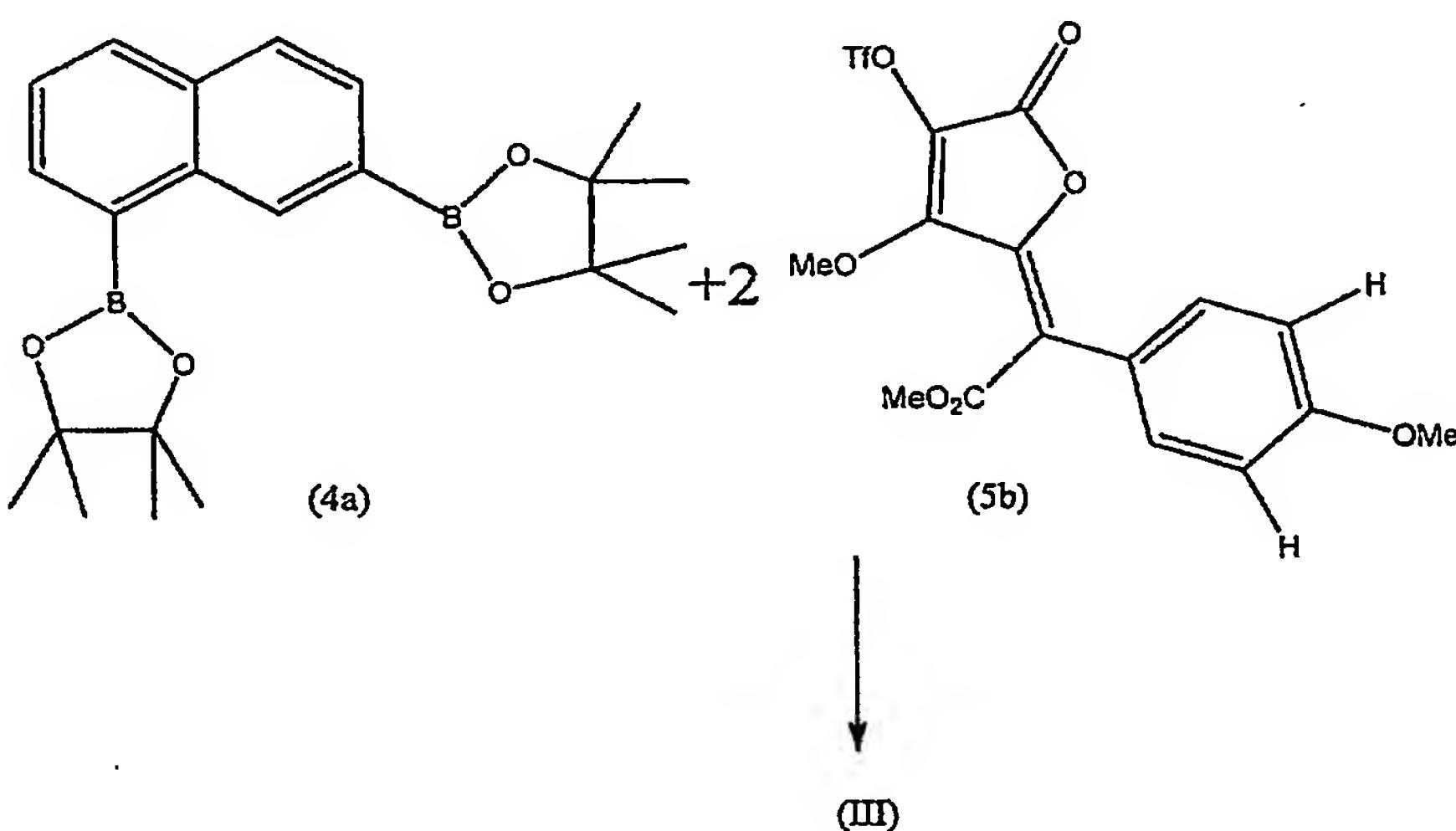
5

Ce composé répond à la formule (I) dans laquelle les  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_6$  et  $R_8$  représentent H, les  $R_4$  et  $R_5$  représentent  $-CH_3$ , les  $R_7$  représentent  $-OCH_3$ .

La synthèse de ce composé correspond au 10 schéma réactionnel suivant :



suivi d'un couplage dit « de Suzuki » pour former la molécule de formule (III), le couplage étant précédé de la synthèse du composé (4a) :



5

a) Préparation du composé (8a).

Dans un bicol de 100 mL, le 4-méthoxyphénylacétate de méthyle (7a) (4,7 mL ; 29,6 mmol ; 2éq) est dissous dans le THF (15 mL) et le mélange est refroidi vers -70°C. Une solution de diisopropylamidure de lithium 2M dans l'heptane (15 mL ; 30 mmol ; 2éq) est ajoutée goutte à goutte à la seringue et le mélange est maintenu 1 heure vers -70°C. Le méthoxyacétate de méthyle (1,5 mL ; 15 mmol ; 1 éq) est additionné à la seringue et on laisse réagir 5 heures en revenant lentement à température ambiante. Après hydrolyse par une solution saturée de chlorure d'ammonium, la phase aqueuse est extraite 3 fois au dichlorométhane, séchée sur  $MgSO_4$  et filtrée. Après évaporation, on obtient une huile orange que l'on

chromatographie sur colonne de silice (éluant : pentane/acétate d'éthyle : 8/2). On isole ainsi 2,93 g de produit. Aspect : solide jaune,  $T_{\text{fusion}}$  : 44°C, Rendement : 77%.

5

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  = 3,37 (s, 3H, OMe) ; 3,75 (s, 3H, OMe) ; 3,81 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ) ; 4,06 et 4,10 (AB,  $J_{\text{AB}}=17,1$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ) ; 4,90 (s, 1H, CH) ; 6,91 (d,  $J=8,5$  Hz, 2H, Ph) ; 7,26 (d,  $J=8,5$  Hz, 2H, Ph).

10

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  = 52,5 ; 55,2 ; 59,3 ; 59,8 ; 69,6 ; 113,6 ; 114,2 ; 123,7 ; 130,6 ; 132,0 ; 159,5 ; 169,0 ; 202,0.

15

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 1612 ; 1741 ; 2836 ; 2960 ; 3013 ; 3434.

Analyse élémentaire (%) : calculée pour  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_5$  : C=61,90 ; H=6,39 ; trouvée C=62,03 ; H=6,44.

20

b) Préparation du composé (9b).

Le produit de condensation (8a) préparé ci-dessus (5,65 g ; 22,4 mmol ; 1 éq) est dissous dans le 25 THF (47 mL) dans un ballon de 100 mL. La triéthylamine (3,7 mL ; 26,6 mmol ; 1,2 éq.) puis le chlorure de triméthylsilyle (3,7 mL ; 29 mmol ; 1,3 éq.) sont ajoutés à la seringue. On observe immédiatement la formation d'un précipité blanc. On laisse réagir une 30 nuit à température ambiante. Après évaporation du THF, le résidu est repris dans le pentane. Le précipité

formé est filtré sur fritté puis sur millipore 5  $\mu\text{m}$  et rincé au pentane. Après évaporation, 7,28 g d'une huile orange sont obtenus.

Le dérivé monosilylé obtenu (7,27 g ; 22,4 mmol ; 1 éq.) est placé dans un ballon de 100 mL et dissous dans le THF (33 mL). Le mélange est refroidi vers  $-70^\circ\text{C}$ . Une solution de LDA (lithium diisopropylamidure) 2M dans l'heptane (11,2 mL ; 22,4 mmol ; 1 éq.) est ajoutée goutte à goutte à la seringue et le mélange est maintenu 1 heure vers  $-70^\circ\text{C}$ . Le chlorure de triméthylsilyle (3,4 mL ; 26,7 mmol ; 1,2 éq.) est additionné à la seringue et le mélange est ramené à la température ambiante en 3 heures. Après évaporation du THF, le résidu est repris dans le pentane et le précipité blanc formé est filtré sur fritté puis sur millipore 5  $\mu\text{m}$ . Après concentration, 8,52 g d'une huile orange sont obtenus. Rendement = 95 %. Deux isomères géométriques sont présents dans cet échantillon.

20

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta = 0,04$  (s, 9H, OSiMe<sub>3</sub> isomère majoritaire) ; 0,05 (s, 9H, OSiMe<sub>3</sub> isomère minoritaire) ; 0,28 (s, 9H, OSiMe<sub>3</sub> isomère minoritaire) ; 0,30 (s, 9H, OSiMe<sub>3</sub> isomère majoritaire) ; 3,46 (s, 3H, OMe isomère majoritaire) ; 3,49 (s, 3H, OMe isomère minoritaire) ; 3,51 (s, 3H, OMe isomère minoritaire) ; 3,56 (s, 3H, OMe isomère majoritaire) ; 3,80 (2s, 2\*3H, OMe isomère minoritaire et OMe isomère majoritaire) ; 5,62 (s, 1H, CH isomère majoritaire) ; 5,95 (s, 1H, CH isomère minoritaire) ; 6,83 (d,  $J=8,5$  Hz, 2H, Ph) ; 7,24-7,31 (m, 2H, Ph).

## c) Préparation du composé (10a).

Dans un tricol de 1 L, le dérivé bis-silylé (9b) préparé ci-dessus (8,52 g ; 21,4 mmol ; 1 éq.) est dissous dans du dichlorométhane (400 mL) et le mélange est refroidi vers -70 °C. Le chlorure d'oxalyle (2,5 mL ; 28,6 mmol ; 1,3 éq.) est ajouté à la seringue et le milieu devient orange. Une solution de triflate de triméthylsilyle (1,2 mL ; 6,6 mmol ; 0,3 éq.) dans le dichlorométhane (120 mL) est coulée par une ampoule à additionner en une heure. Le bain froid est saturé de carboglace pour que le milieu réactionnel revienne très lentement à température ambiante au cours de la nuit. Après hydrolyse par une solution saturée de NaCl, on extrait 3 fois avec du dichlorométhane, on sèche sur  $\text{MgSO}_4$ , on filtre et on concentre. On récupère 7,95 g d'un solide marron. Après chromatographie sur colonne de silice (éluant : acétate d'éthyle/pentane : 1/1), on obtient 3,53 g de produit (5'). Aspect : solide jaune,  $T_{\text{fusion}} = 160^{\circ}\text{C}$ , Rendement = 54 %, isomère (E).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) :  $\delta = 3,85$  (s, 3H, OMe ou  $\text{CO}_2\text{Me}$ ) ; 3,87 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{Me}$  ou OMe) ; 4,16 (s, 3H, OMe phényle) ; 6,96-9,99 (m, 2H, Ph) ; 7,47-7,50 (m, 2H, Ph).

RMN  $^{13}\text{C}$  (acétone- $\text{d}_6$ ) :  $\delta = 52,3$  ; 55,2 ; 59,8 ; 113,5 ; 114,5 ; 124,6 ; 130,6 ; 131,7 ; 139,9 ; 143,3 ; 160,4 ; 164,5 ; 167,3.

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 1667 ; 1731 ; 3239 ; 3295.

Analyse élémentaire (%) : calculée pour  $C_{15}H_{14}O_7$  :  
 C=58,82 ; H=4,61 ; trouvée C=59,07 ; H= 4,92.

d) Préparation du composé (5b).

5

Dans un ballon de 250 mL, l'alcool (10a) préparé ci-dessus (3,24 g ; 10,6 mmol ; 1 éq.) est mis en suspension dans le dichlorométhane (100 mL) et le mélange est refroidi vers -70°C. La pyridine (2,2 mL ; 10 27 mmol ; 2,5 éq.) puis l'anhydride triflique (2,2 mL ; 13 mmol ; 1,2 éq.) sont ajoutés à la seringue. Après retour à température ambiante en 6 heures, le mélange est hydrolysé, lavé 3 fois à l'eau, séché sur  $MgSO_4$ , filtré et concentré. Après chromatographie sur colonne 15 de silice (éluant : dichlorométhane), on isole 3,14 g de triflate (VI). Aspect : solide jaune ;  $T_{fusion}=93^\circ C$  ; Rendement=68%, isomère (E).

20 RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ ) :  $\delta= 3,85$  (s, 3H, OMe) ; 3,90 (s, 3H, OMe) ; 4,29 (s, 3H, OMe) ; 6,94 (d,  $J=9,2$  Hz, 2H, Ph).

25 RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ ) :  $\delta= 53,1$  ; 55,5 ; 61,1 ; 114,6 ; 116,4 ; 120,6 ; 122,6 ; 129,4 ; 131,4 ; 135,7 ; 155,8 ; 161,3 ; 166,1.

25

Masse [m/z (%)] : 456 (100) ( $M+NH_4^+$ ) ; 439 (11) ( $M+1$ ).

IR (KBr,  $cm^{-1}$ ) : 1604 ; 1643 ; 1667 ; 1733 ; 1744 ; 1783 ; 1802 ; 2961.

30

## e) Préparation du composé (4a).

5 Le bistriflate dérivé du 1,7-dihydroxynaphtalène (157 mg ; 0,98 mmol), le pinacolborane (0,44 mL ; 3 mmol), le  $PdCl_2$  (44 mg ; 0,06 mmol), la triéthylamine (0,84 mL ; 6 mmol) et le dioxane préalablement dégazé (8 mL) sont introduits  
10 dans un bicol de 50 mL et placés sous atmosphère d'argon. On porte à reflux pendant 2 heures sous agitation. Après hydrolyse par 20 mL d'eau, la phase aqueuse est extraite 3 fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur  $MgSO_4$ ,  
15 filtrées et concentrées. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : hexane/acétate d'éthyle : 8/2) permet d'isoler 104 mg de dérivé boré ; Rendement=43%.

20 RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ ) :  $\delta$ = 1,43 et 1,49 (2s, chacun 12H, Me) ; 7,55 (t , 1H ,  $J=6,7$  Hz , g) ; 7,88 (m , 2H) ; 7,97 (d , 1H ,  $J=6,7$  Hz) ; 8,09 (d , 1H ,  $J=6,7$  Hz) ; 9,31 (s , 1H) .

25 RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ ) :  $\delta$ = 24,8 ; 83,6 ; 126,9 ; 128,2 ; 125,7 ; 127,2 ; 129,8 ; 130,1 ; 130,9 ; 134,7 ; 136,0 ; 136,5 .

## f) Préparation du composé final (III).

Le triflate (VI) préparé ci-dessus (214 mg ; 0,488 mmol ; 2,1 éq.), le 1,7-bis(4,4,5,5-tétraméthyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)naphatlène (89 mg ; 0,234 mmol ; 1 éq.), le dichlorobis(triphénylphosphine)palladium (19 mg ; 0,003 mmol ; 0,1 éq.) et 20 mL de THF préalablement dégazé sont introduits dans un bicol de 50 mL et placés sous atmosphère d'argon. Une solution aqueuse 2M de bicarbonate de sodium (4,8 mL) est ajoutée. On porte à reflux pendant 3 heures. Après hydrolyse par 30 mL d'eau, la phase aqueuse est extraite 3 fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur  $\text{MgSO}_4$ , filtrées et concentrées. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : hexane/acétate d'éthyle : 6/4) permet d'isoler 104 mg de composé (). Aspect : solide jaune. Rendement : 63%.

$\text{RMN } ^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  = 3,63 (s, 3H, OMe énolique) ; 3,80 (s, 3H, OMe phénolique ; 3,86 ; 3,87 ; 3,90 ; 3,92 (4s, 3H chacun, OMe phénoliques,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ) ; 6,94-6,99 (m, 4H,  $\text{CHCOMe}$ ) ; 7,57-7,59 (m, 2H) ; 7,66-7,74 (m, 5H) ; 7,90 (s, 1H) ; 7,96-7,99 (m, 2H).

$\text{RMN } ^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  = 52,6 ; 55,2 ; 60,6 ; 61,5 ; 103,4 ; 106,5 ; 114,1 ; 116,9 ; 123,2 ; 125,9 ; 126,5 ; 127,3 ; 127,5 ; 128,7 ; 129,3 ; 130,1 ; 130,6 ; 130,7 ; 131,3 ; 133,1 ; 139,4 ; 139,5 ; 160,3 ; 163,0 ; 164,0 ; 166,8 ; 168,0.

Analyse élémentaire (%) : calculée pour C<sub>40</sub>H<sub>32</sub>O<sub>12</sub> :  
C=68,18 ; H=4,58 ; trouvée C=68,03 ; H=4,83.

5

## Références citées.

[1] M.Jang et al, « Cancer Chemoprotective Activity of Resveratrol, a natural product derived from grapes », Science 1997, 275, 218-220 ;

[2] M.V Eberhardt et al. « Antioxydant Activity of Fresh Apples », Nature 2000, 405, 903-904 ;

[3] T.Finkel et al. « Oxydants, Oxidative Stress and the biology of ageing », Nature 2000, 408, 239-247 ;

[4] « Pigments from the cap cuticle of the Bay Boletus », Angew.Chem.Int.Ed. Engl.23(1984), n°6 ;

[5] « A naphtalenoid pulvinic acid derivative from the Fungus Pisolithus Tinctorius », Phytochemistry, vol 24, n°6, pp 1351-1354, 1985 ;

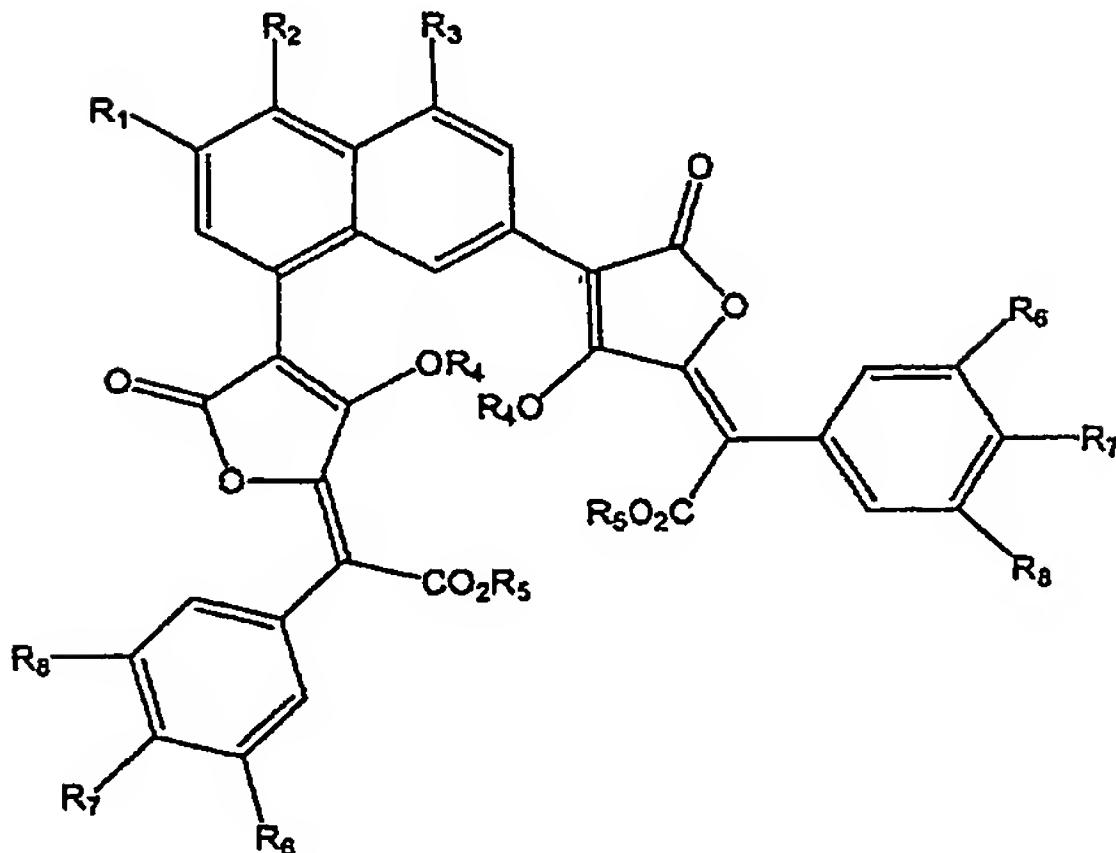
[6] P.Langer et al., « Domino Reaction of 1,3-bis(trimethylsilyloxy)-1,3-dienes with Oxallyl Chloride : General and Stereoselective Synthesis of  $\gamma$ -Alkylidenebutenolides » Chem.Eur.J.2000, 6, N°7, 3204-3214 ;

[7] Cook et al, Journal of Immunological Methods, 2001,  
254, pages 109-118 ;

[8] Papazisis et col « Optimization of the  
5 sulforhodamine B colorimetric assay », J.Immunol.Meth,  
208, pages 151-158, 1997 [8].

## REVENDICATIONS

1. Composé répondant à la formule (I) suivante :



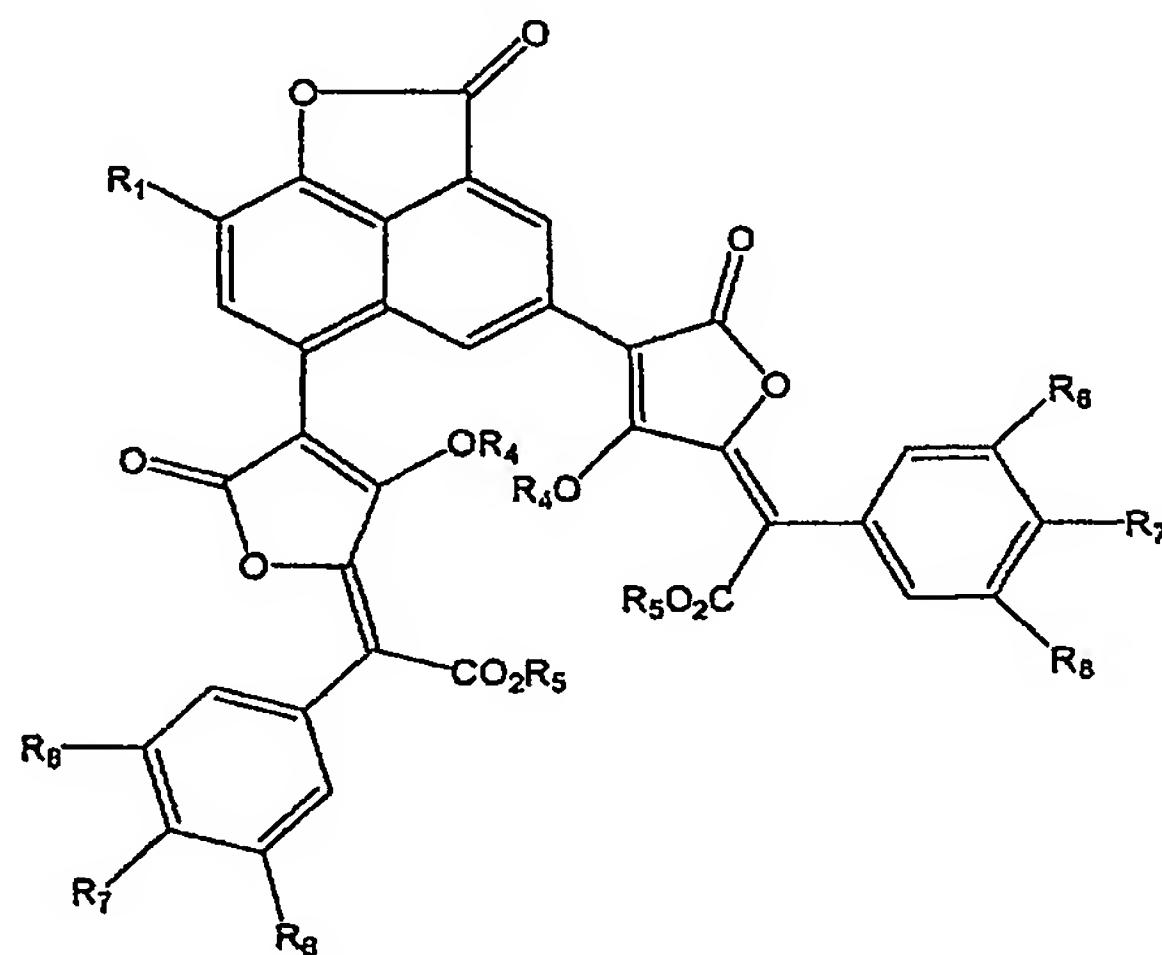
5

(I)

dans laquelle les  $R_1$ ,  $R_6$ ,  $R_7$  et  $R_8$ , identiques ou différents, représentent H, -OH ou  $OR_9$ ,  $R_2$  représente H, -OH ou  $-OR_9$ ,  $R_3$  représente H,  $R_9$ ,  $-CO_2R_9$  ou  $-CO-NHR_{10}$ , ou  $R_2$  et  $R_3$  forment ensemble un groupe  $-O-CO-$ , les  $R_4$  et  $R_5$ , identiques ou différents, représentent H ou  $R_9$ ,  $R_9$  représentant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone,  $R_{10}$  représentant  $R_9$  ou  $-(CH_2)_a-NH-(CH_2)_b-NH_2$ , a et b étant des entiers allant de 2 à 4 et leurs sels, à l'exception du composé dans lequel  $R_2$  et  $R_3$  forment ensemble un groupe  $-O-CO-$ , les  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  et  $R_8$  représentent H, les  $R_1$  et  $R_7$  représentent -OH et du disel de potassium correspondant à ce composé, à l'exception du composé dans lequel  $R_2$  et  $R_3$  forment ensemble un groupe  $-O-CO-$ , les  $R_1$  et  $R_7$  représentent  $-OCH_3$ , les  $R_4$  et  $R_5$  représentent  $-CH_3$  et les  $R_6$  et  $R_8$  représentent H et à l'exception du composé dans lequel les  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_7$  représentent  $-O-CH_3$ ,  $R_3$

représente  $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ , les  $\text{R}_4$  et  $\text{R}_5$  représentent  $\text{CH}_3$  et les  $\text{R}_6$  et  $\text{R}_8$  représentent  $\text{H}$ .

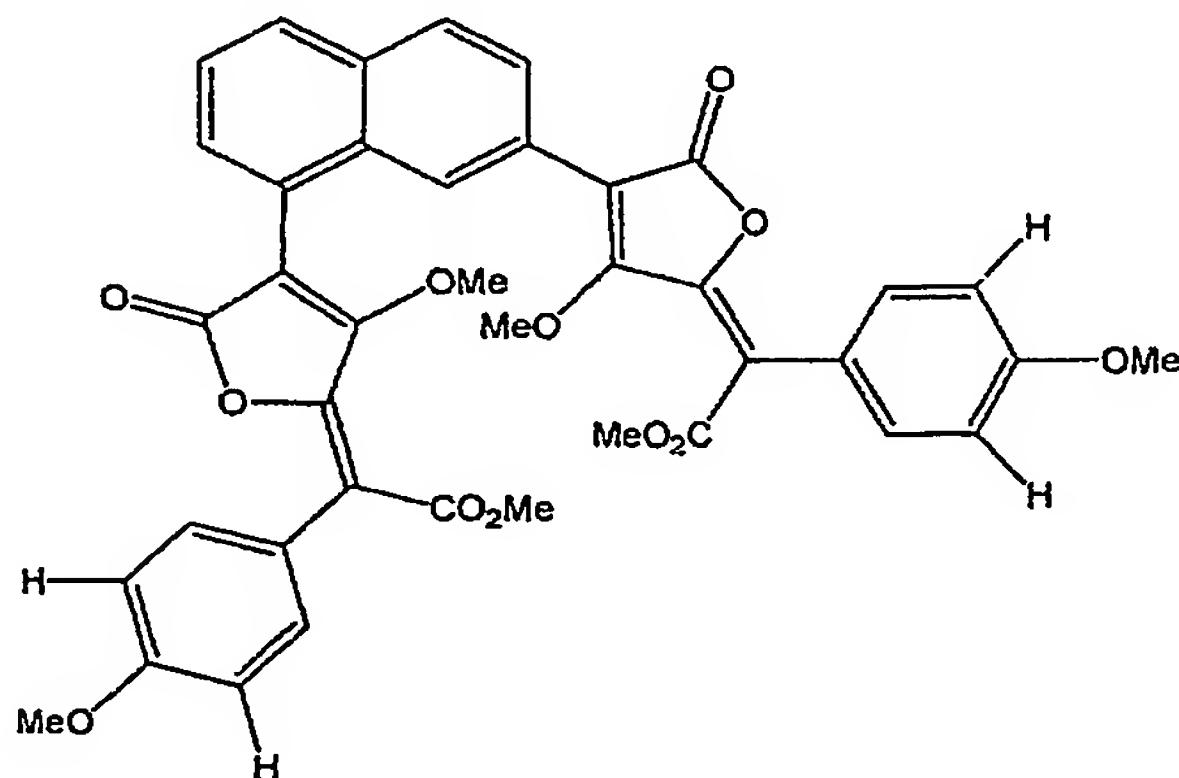
2. Composé selon la revendication 1, pour  
5 lequel  $\text{R}_2$  et  $\text{R}_3$  forment ensemble un groupement  $-\text{O}-\text{CO}-$ ,  
le dit composé répondant à la formule (II) suivante :



(II)

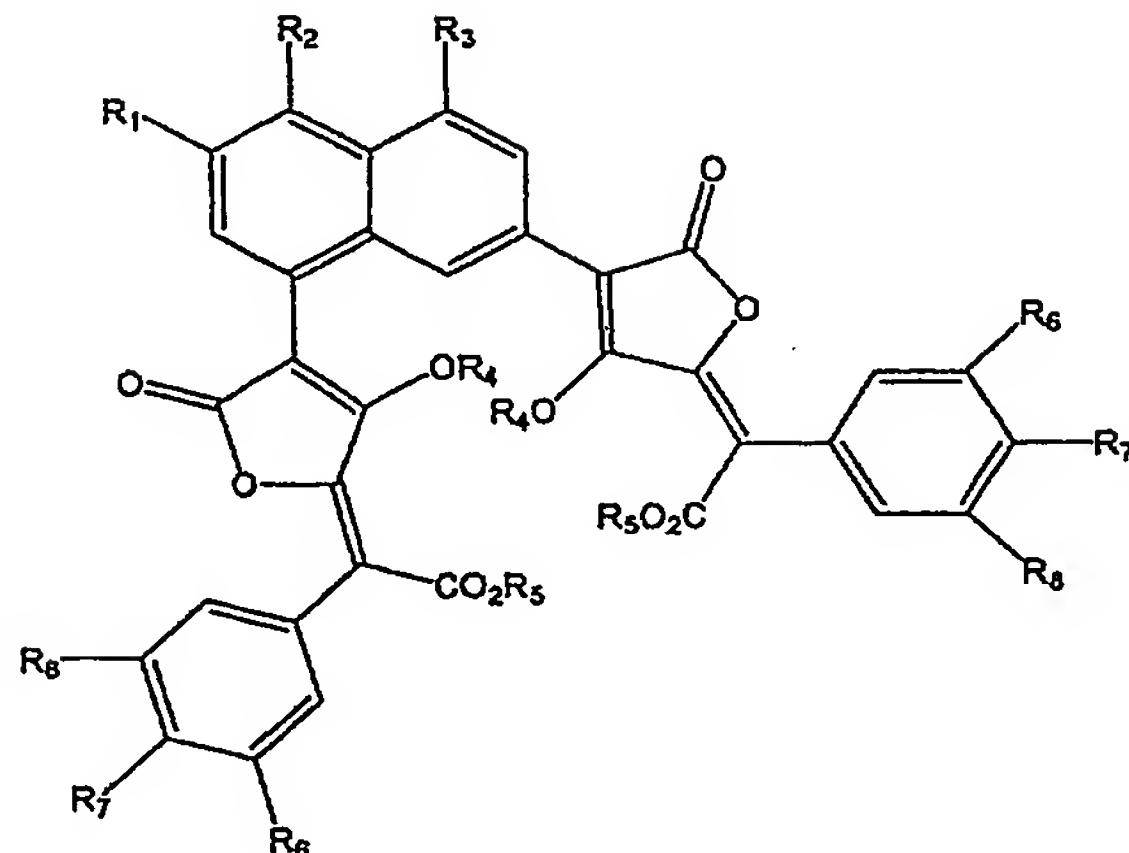
les  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_4$ ,  $\text{R}_5$ ,  $\text{R}_6$ ,  $\text{R}_7$  et  $\text{R}_8$  ayant la même définition que  
10 celle donnée dans la revendication 1.

3. Composé répondant à la formule (III)  
suivante :



(III)

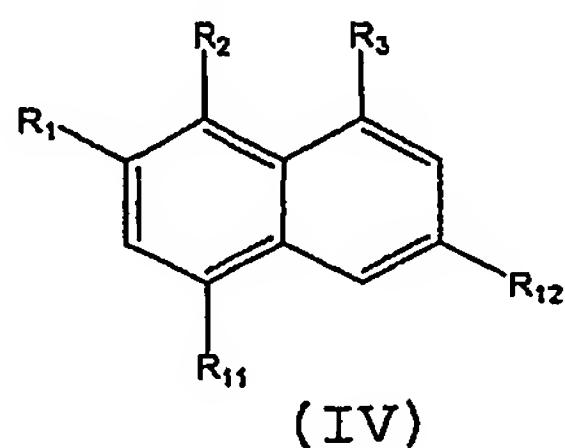
4. Procédé de préparation de composés de formule (I) suivante :



5

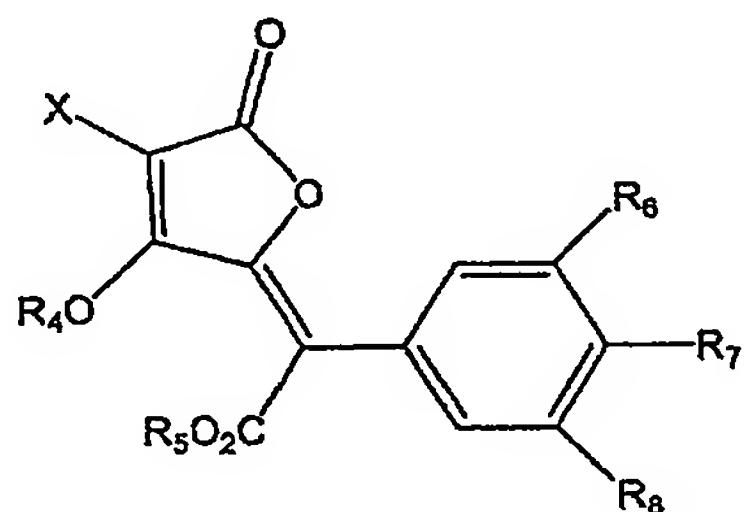
(I)

dans laquelle les  $R_1$ ,  $R_6$ ,  $R_7$  et  $R_8$ , identiques ou différents, représentent H, -OH ou  $OR_9$ ,  $R_2$  représente H, -OH ou  $-OR_9$ ,  $R_3$  représente H,  $R_9$ ,  $-CO_2R_9$  ou  $-CO-NH-R_{10}$  ou 10  $R_2$  et  $R_3$  forment ensemble un groupe  $-O-CO-$ , les  $R_4$  et  $R_5$ , identiques ou différents, représentent H ou  $R_9$ ,  $R_9$  représentant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone,  $R_{10}$  représentant  $R_9$  ou  $-(CH_2)_a-NH-(CH_2)_b-NH_2$  avec a et b étant des entiers 15 allant de 2 à 4, et leurs sels, ledit procédé consistant à faire réagir un composé de formule (IV) suivante :



$R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$  ayant la même définition que celle donnée dans la revendication 1, les  $R_{11}$ ,  $R_{12}$  représentent -  $B(OR_{13})(OR_{14})$  ou  $-Sn(R_{15})_3$ , les  $R_{13}$  et  $R_{14}$ , identiques ou différents, représentent H ou un groupe alkyle de 1 à 7 atomes de carbone ou les  $R_{13}$  et  $R_{14}$  forment ensemble un groupe alkylène linéaire ou ramifié,  $R_{15}$  représente un groupe méthyle ou butyle,

5 avec un composé de formule (V) suivante :



10

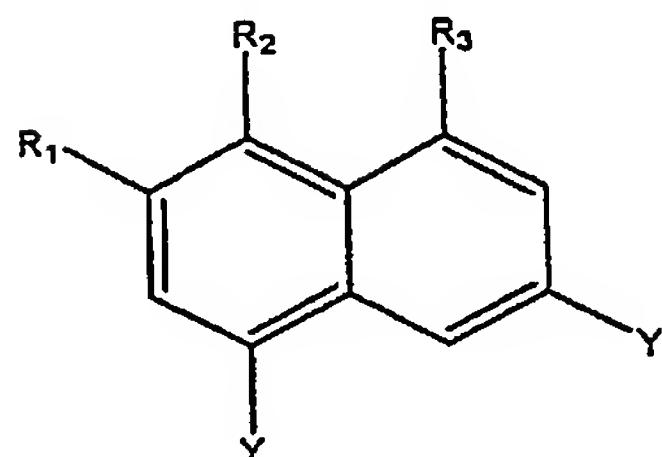
(V)

les  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$  et  $R_8$  répondant à la même définition que celle de la revendication 1 et X étant un groupe partant, ladite réaction s'effectuant en présence d'une base, d'un catalyseur à base de platine ou palladium et 15 étant suivie éventuellement d'une étape de traitement destinée à obtenir les sels adéquats.

5. Procédé de préparation selon la revendication 4, dans lequel le catalyseur à base de 20 platine est le dichlorobis(triphénylphosphine)palladium.

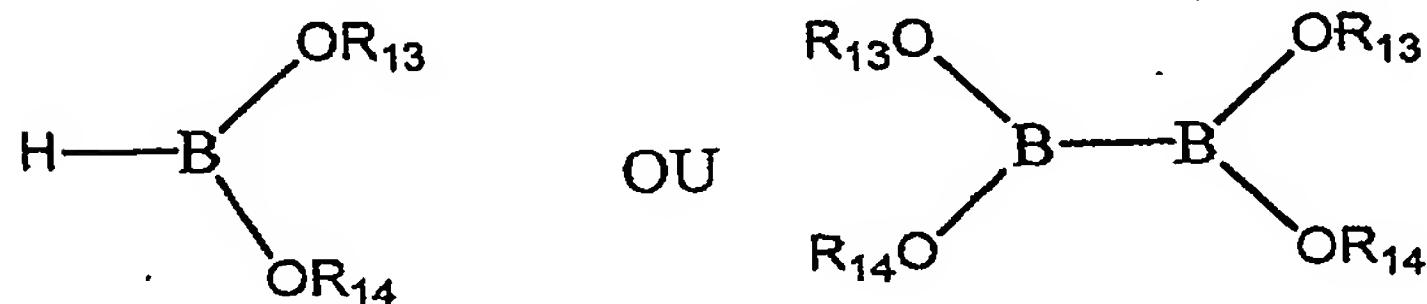
6. Procédé de préparation selon la revendication 4 ou 5, dans lequel le composé 25 intermédiaire (IV), avec  $R_{11}$  et  $R_{12}$  représentant -

$B(OR_{13})(OR_{14})$ , est préparé par réaction d'un composé dérivé du naphtalène de formule (VI) :



5 (VI)

les  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$  ayant la même définition que celle donnée dans la revendication 1 et les  $Y$  identiques ou différents étant des groupes partants choisis, par exemple, parmi les halogènes tels que le fluor, chlore, brome, iodé, le triflate  $-O-SO_2-CF_3$ , avec un composé boré de formules :



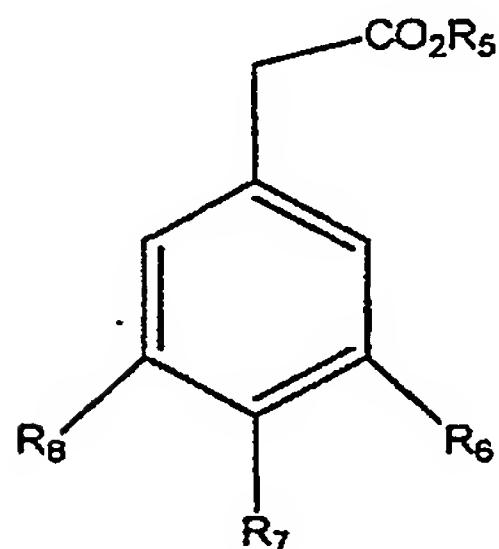
15

$R_{13}$  et  $R_{14}$  ayant la même signification que celle donnée dans la revendication 4, en présence d'une base ou d'un catalyseur à base de platine ou de palladium

7. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, dans lequel le

composé intermédiaire (V) est préparé par la succession d'étapes suivantes :

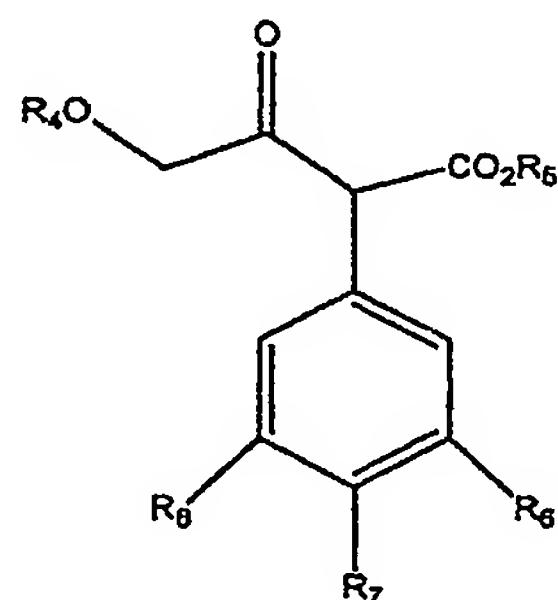
a) réaction d'un phénylacétate de formule (VII) suivante :



5

(VII)

les  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$  et  $R_8$ , ayant la même définition que celle donnée dans la revendication 1, en milieu basique, avec un  $\alpha$ -alcoxyacétate d'alkyle b de formule  $R_4O-CH_2-CO-OAlk$ ,  $R_4$  répondant à la même définition que celle donnée dans la revendication 1, le groupement Alk étant un groupement alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone, pour former un composé de formule (VIII) suivante :

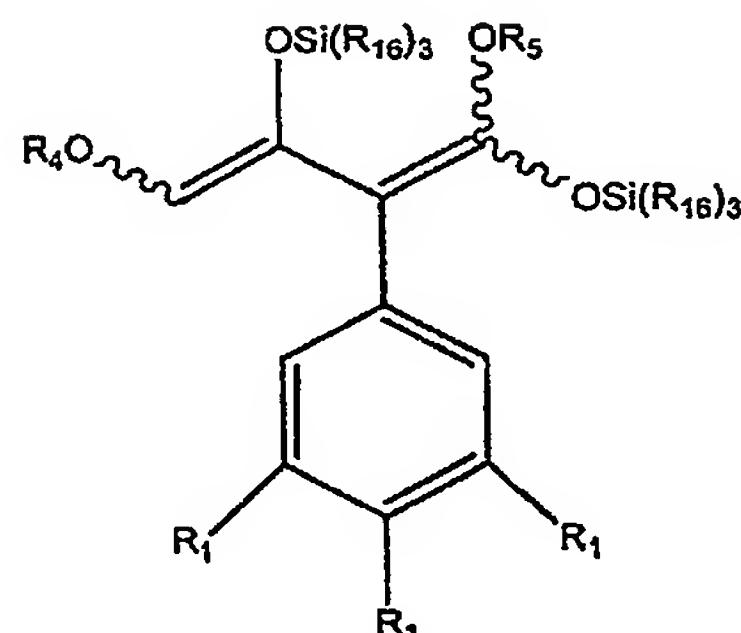


15

(VIII)

b) réaction du composé (VIII), en milieu basique avec un composé silylé de formule  $(R_{16})_3SiHal$ ,  $R_{16}$  étant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 4

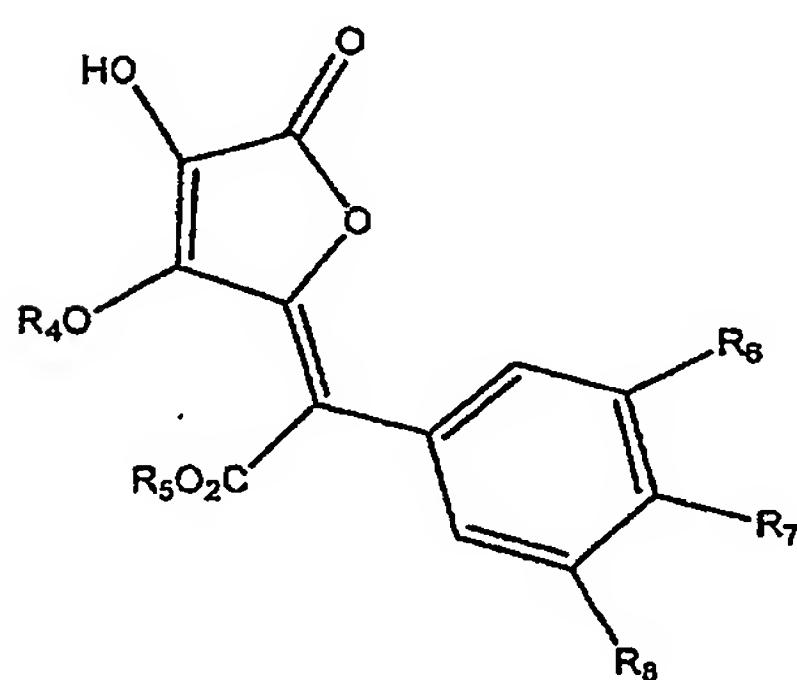
atomes de carbone, Hal étant un groupe halogène, tel que F, Cl, Br, I afin d'obtenir un composé disilylé de formule (IX) :



5

(IX)

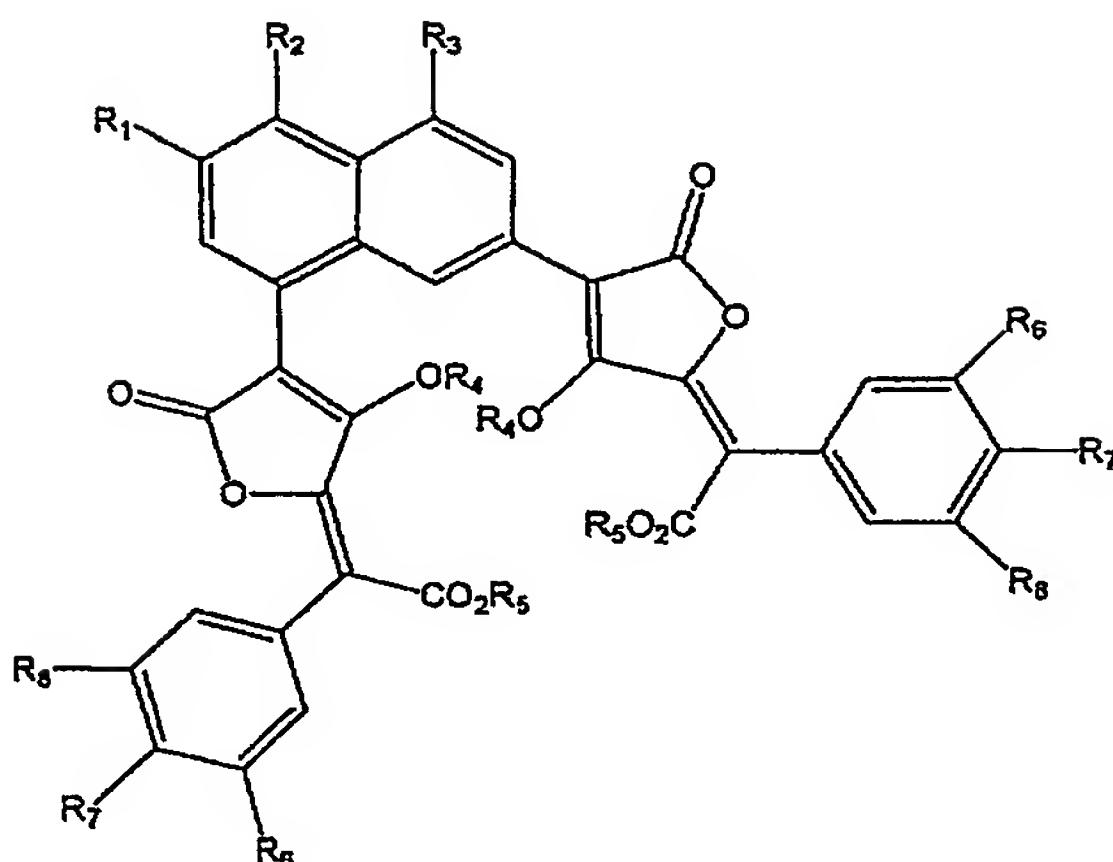
c) réaction de cyclisation du composé (IX) avec le chlorure d'oxalyle  $(ClCO)_2$ , pour former le composé de formule (X) :



(X)

d) réaction du composé avec un réactif apte à former avec le -OH du cycle lactone un groupe partant afin d'obtenir la composé de formule (V).

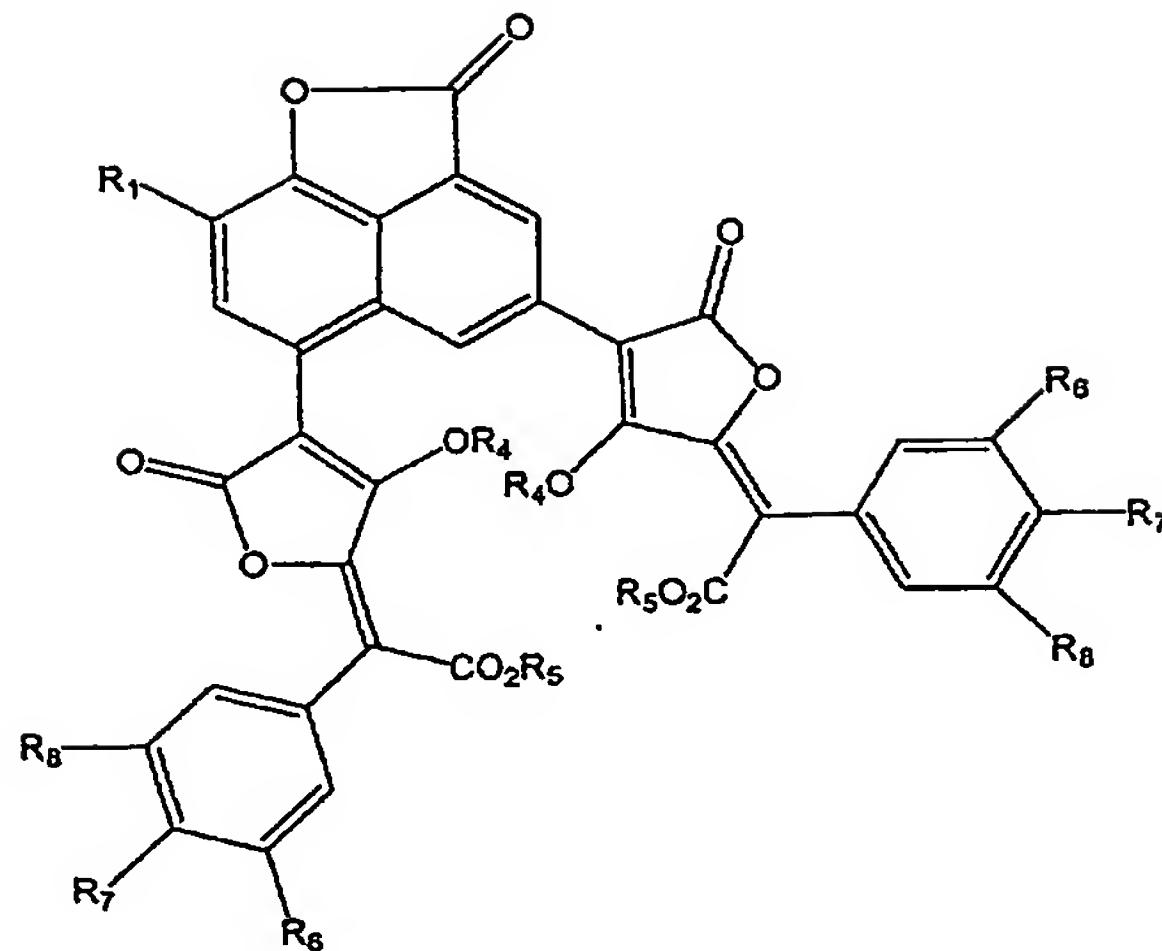
8. Agent antioxydant de formule (I) suivante :



(I)

5 dans laquelle les  $R_1$ ,  $R_6$ ,  $R_7$  et  $R_8$ , identiques ou différents, représentent H, -OH ou  $OR_9$ ,  $R_2$  représente H, -OH ou  $-OR_9$ ,  $R_3$  représente H,  $R_9$ ,  $-CO_2R_9$  ou  $-CO-NHR_{10}$ , ou  $R_2$  et  $R_3$  forment ensemble un groupe  $-O-CO-$ , les  $R_4$  et  $R_5$ , identiques ou différents, représentent H ou  $R_9$ ,  $R_9$  10 représentant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone,  $R_{10}$  représentant  $R_9$  ou  $-(CH_2)_a-NH-(CH_2)_b-NH_2$  avec a et b étant des entiers allant de 2 à 4, et leurs sels.

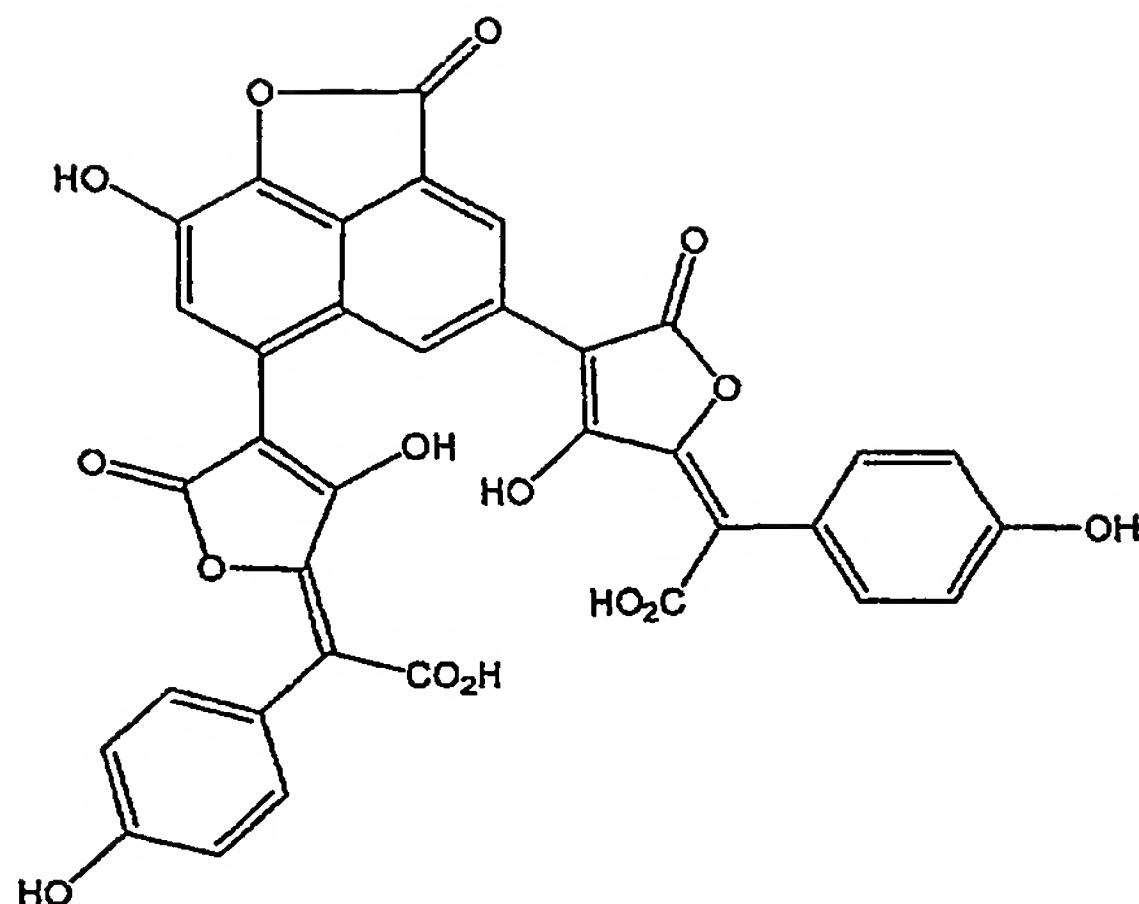
15 9. Agent antioxydant selon la revendication 8, pour lequel  $R_2$  et  $R_3$  forment ensemble un groupement  $-O-CO-$ , répondant à la formule (II) suivante :



(II)

5 les R<sub>1</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> et R<sub>8</sub> ayant la même définition que celle donnée dans la revendication 8.

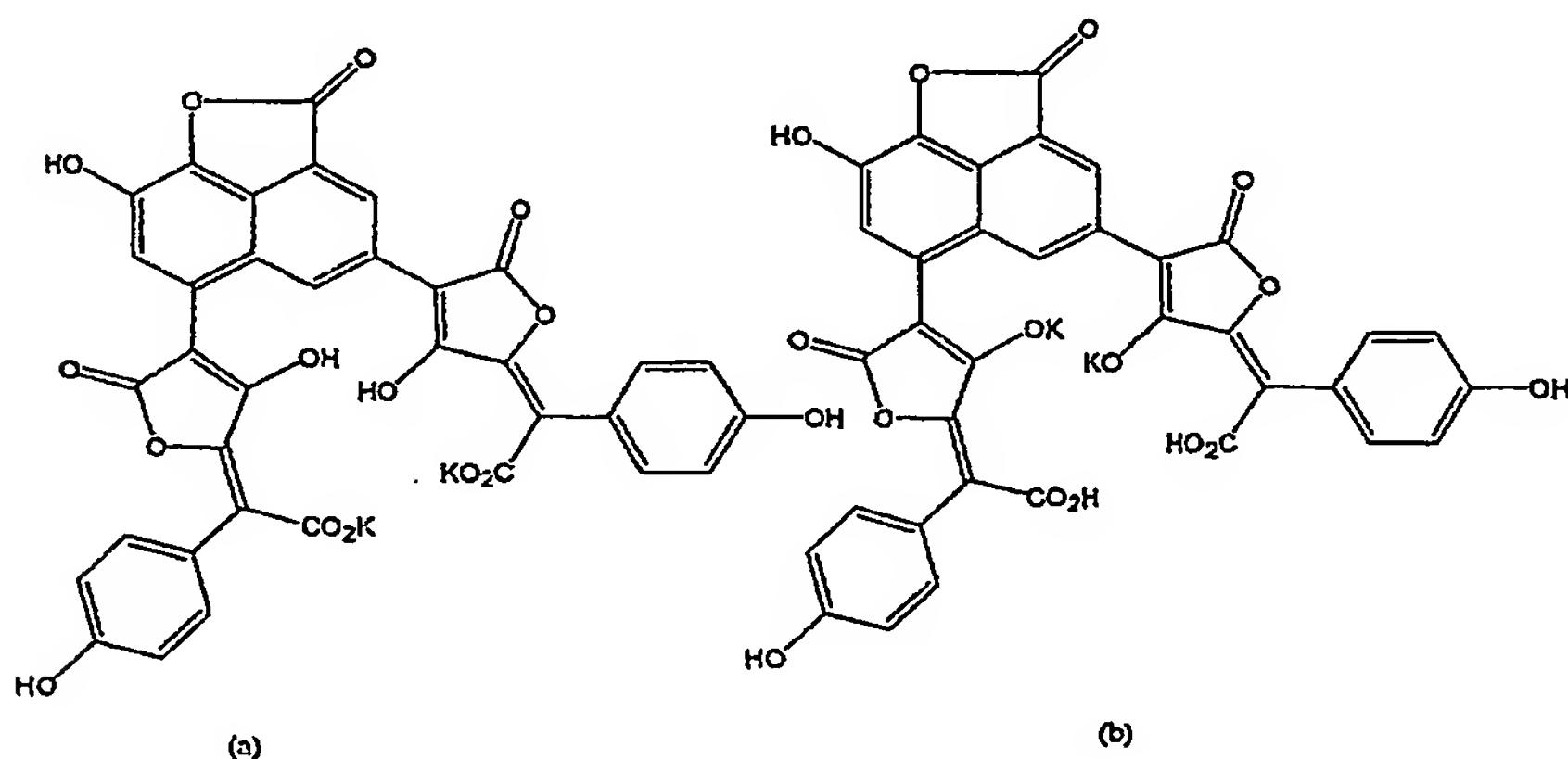
10. Agent antioxydant selon la revendication 9, dans lequel les R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> et R<sub>8</sub> correspondent à un atome d'hydrogène, les R<sub>1</sub> et R<sub>7</sub> représentent -OH, ledit composé répondant à la formule (XI) suivante :



(XI)

5 11. Agent antioxydant selon la revendication 10, correspondant au disel potassique du composé de formule (XI) de la revendication 10, ledit disel, existant sous deux formes (a) et (b) répondant à la formule (XII) suivante :

10



(XII)

15

12. Composition pharmaceutique comprenant au moins un agent antioxydant selon l'une quelconque des revendications 8 à 11 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

13. Composition pharmaceutique selon la revendication 12, utilisable pour le traitement de maladies inflammatoires.

10

14. Composition pharmaceutique selon la revendication 12, utilisable pour le maintien en survie de cellules soumises à un rayonnement ionisant induisant la production de radicaux libres.

15

15. Composition pharmaceutique selon la revendication 12, utilisable pour le maintien en survie de cellules saines soumises à l'action de médicaments induisant la production de radicaux libres.

20

16. Composition cosmétique comprenant au moins un agent antioxydant selon l'une quelconque des revendications 8 à 11 et un véhicule cosmétiquement acceptable.

25

17. Composition alimentaire comprenant en tant qu'additifs au moins un agent antioxydant selon l'une quelconque des revendications 8 à 11.

30

18. Composition selon l'une quelconque des revendications 12 à 17, comprenant un agent antioxydant

de formule (XI) tel que définie dans la revendication 10.

19. Composition selon l'une quelconque des 5 revendications 12 à 17, comprenant un agent antioxydant de formule (XII) tel que définie dans la revendication 11.

1/4

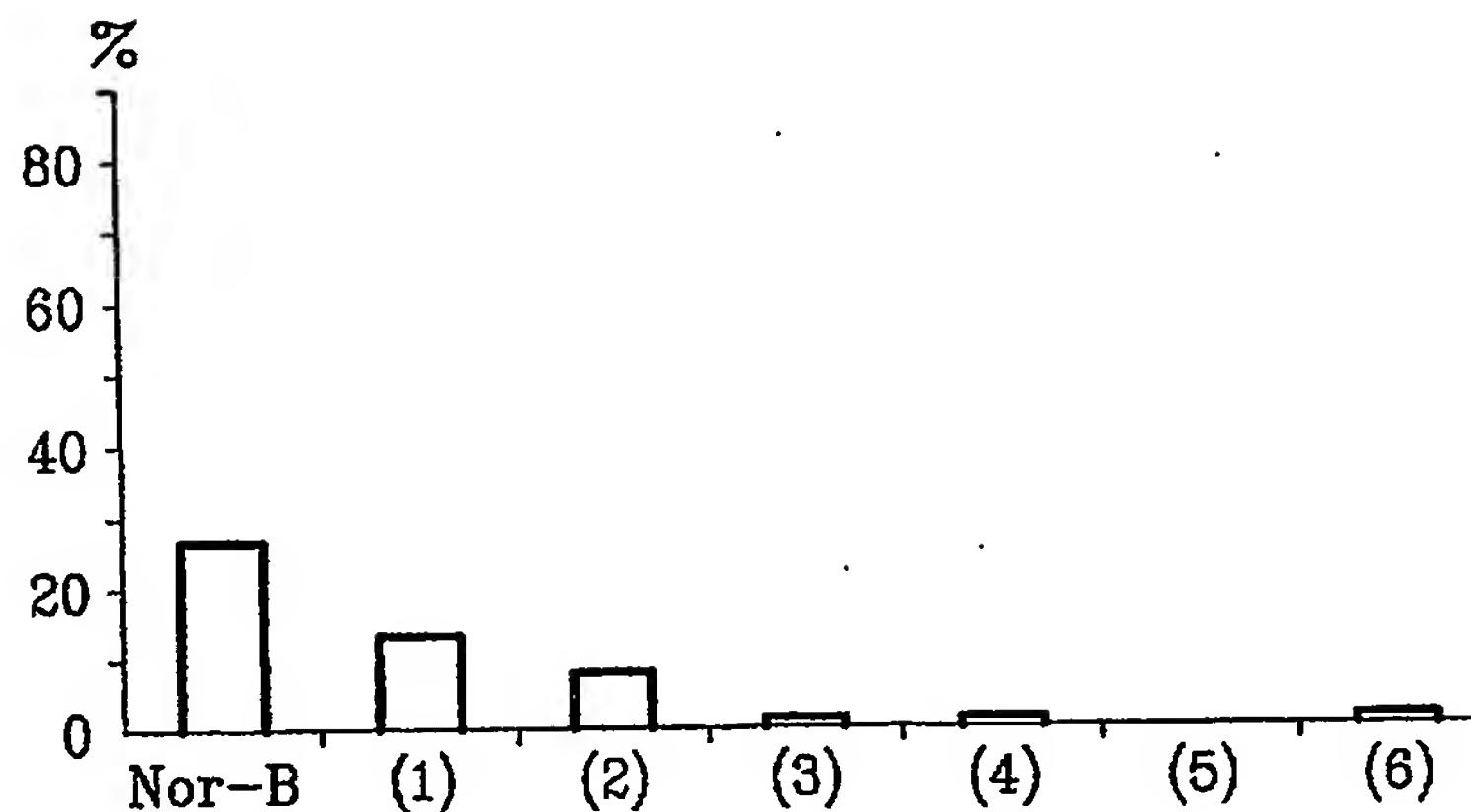


Fig. 1

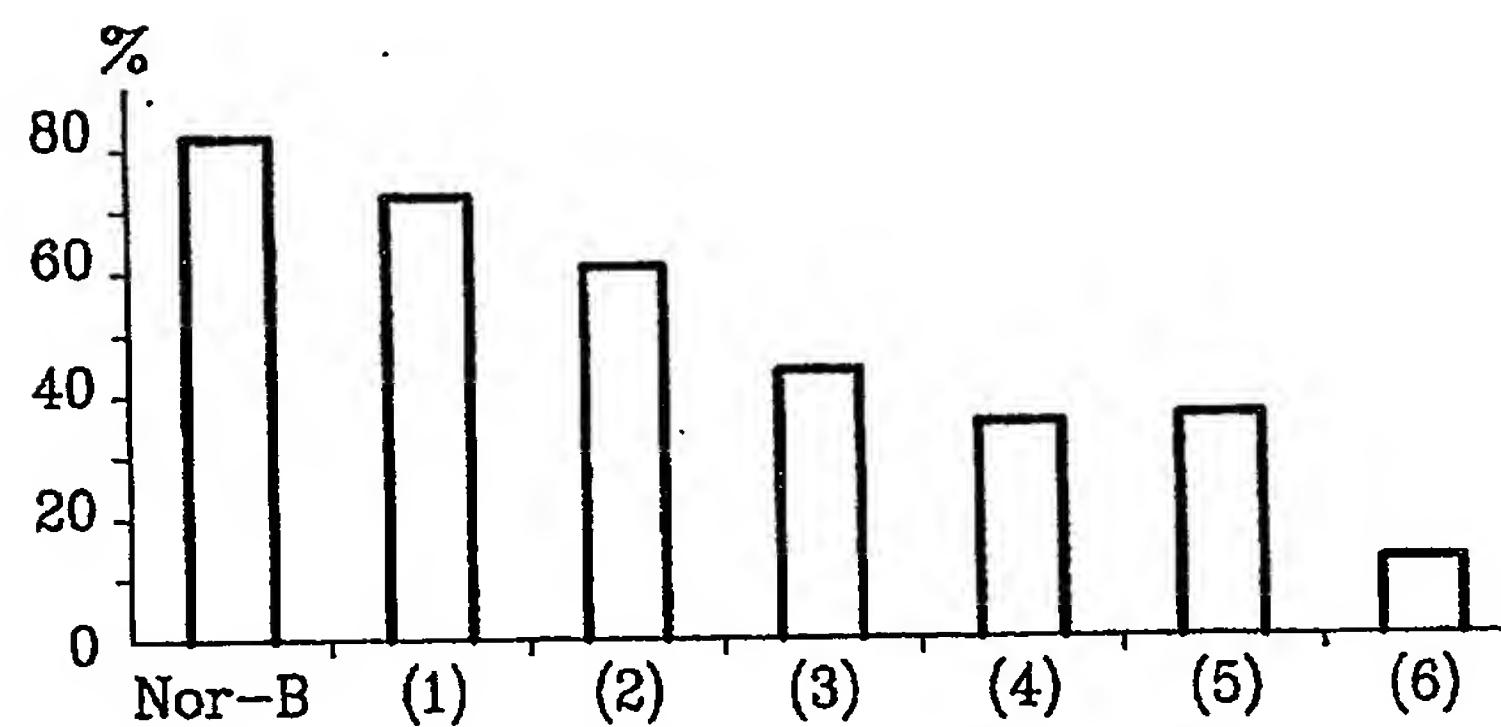


Fig. 2

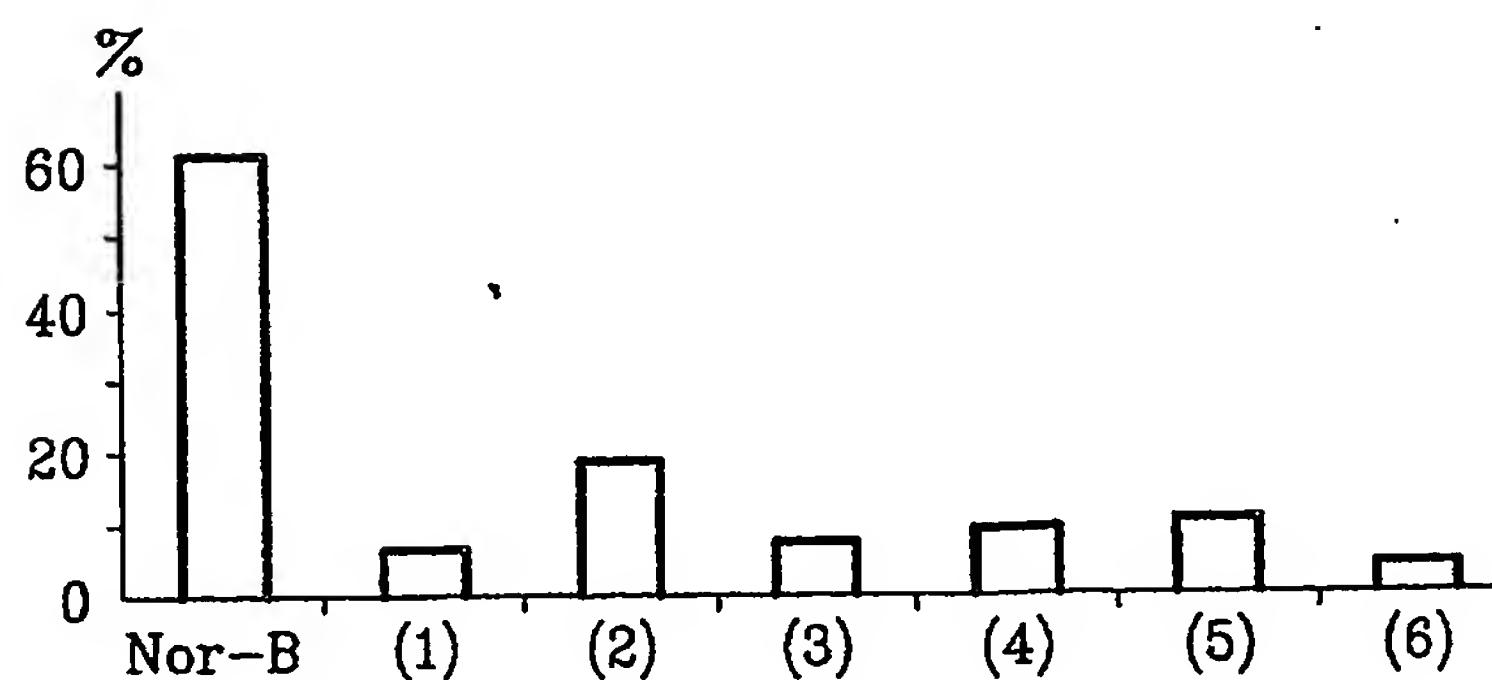
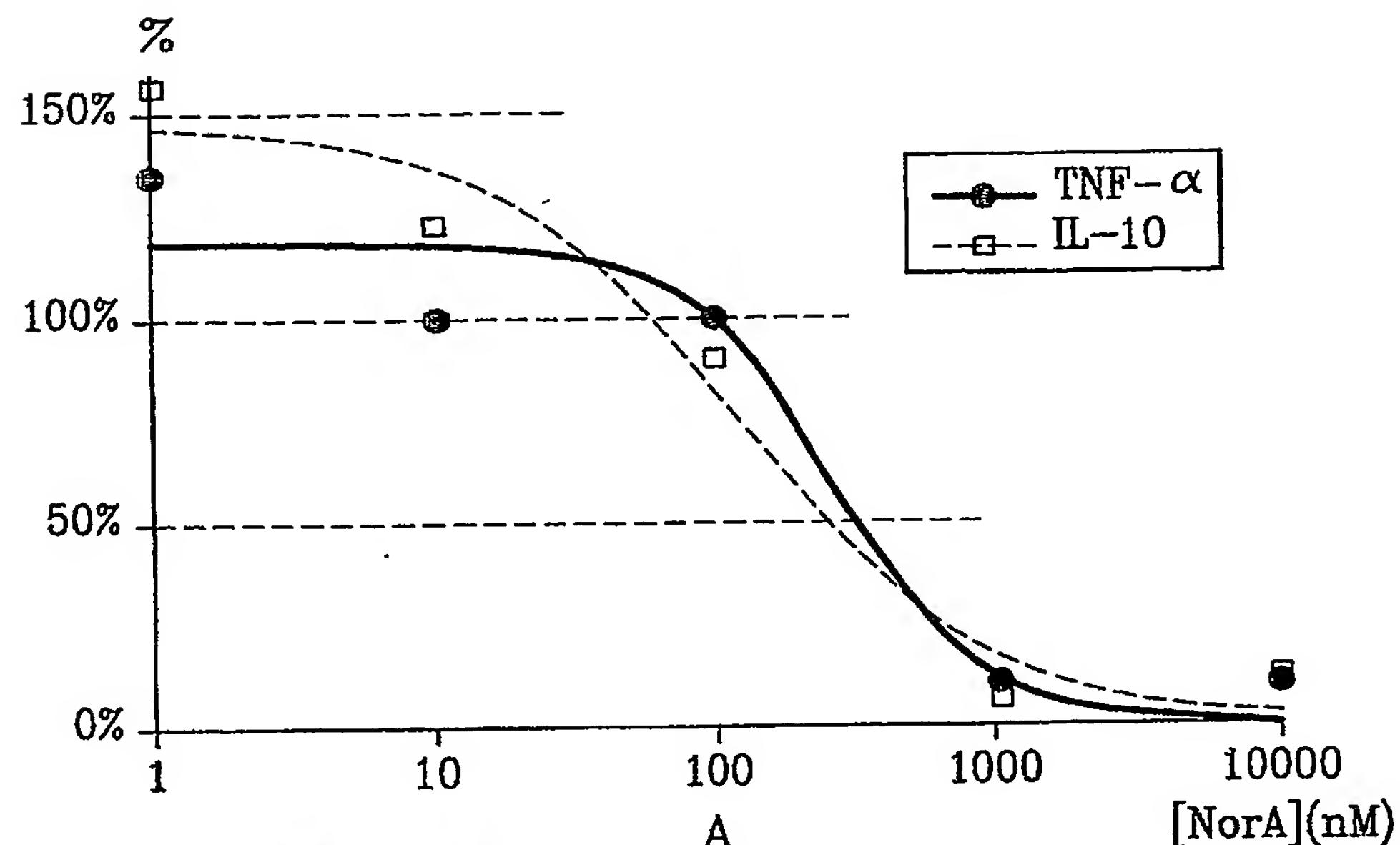
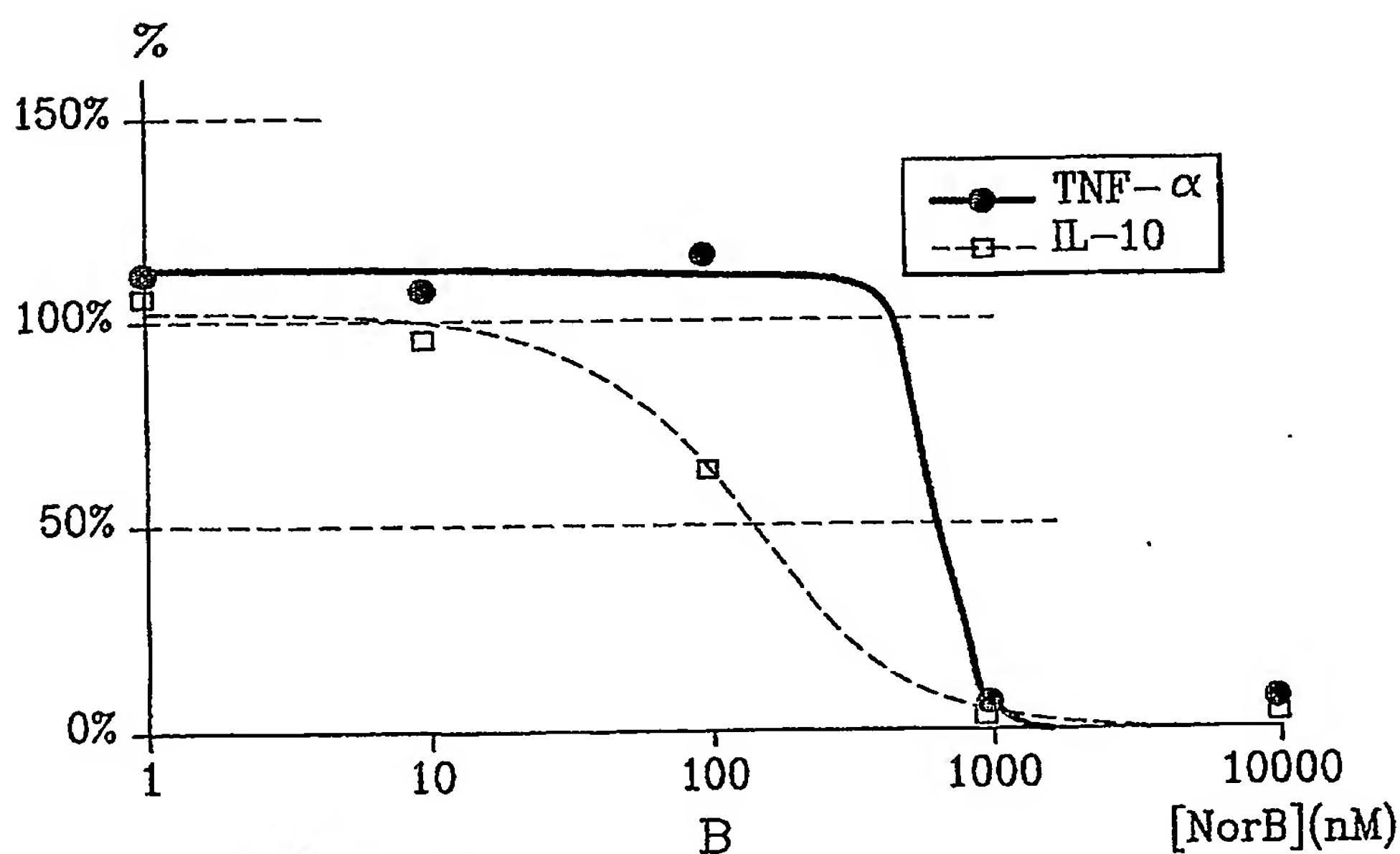
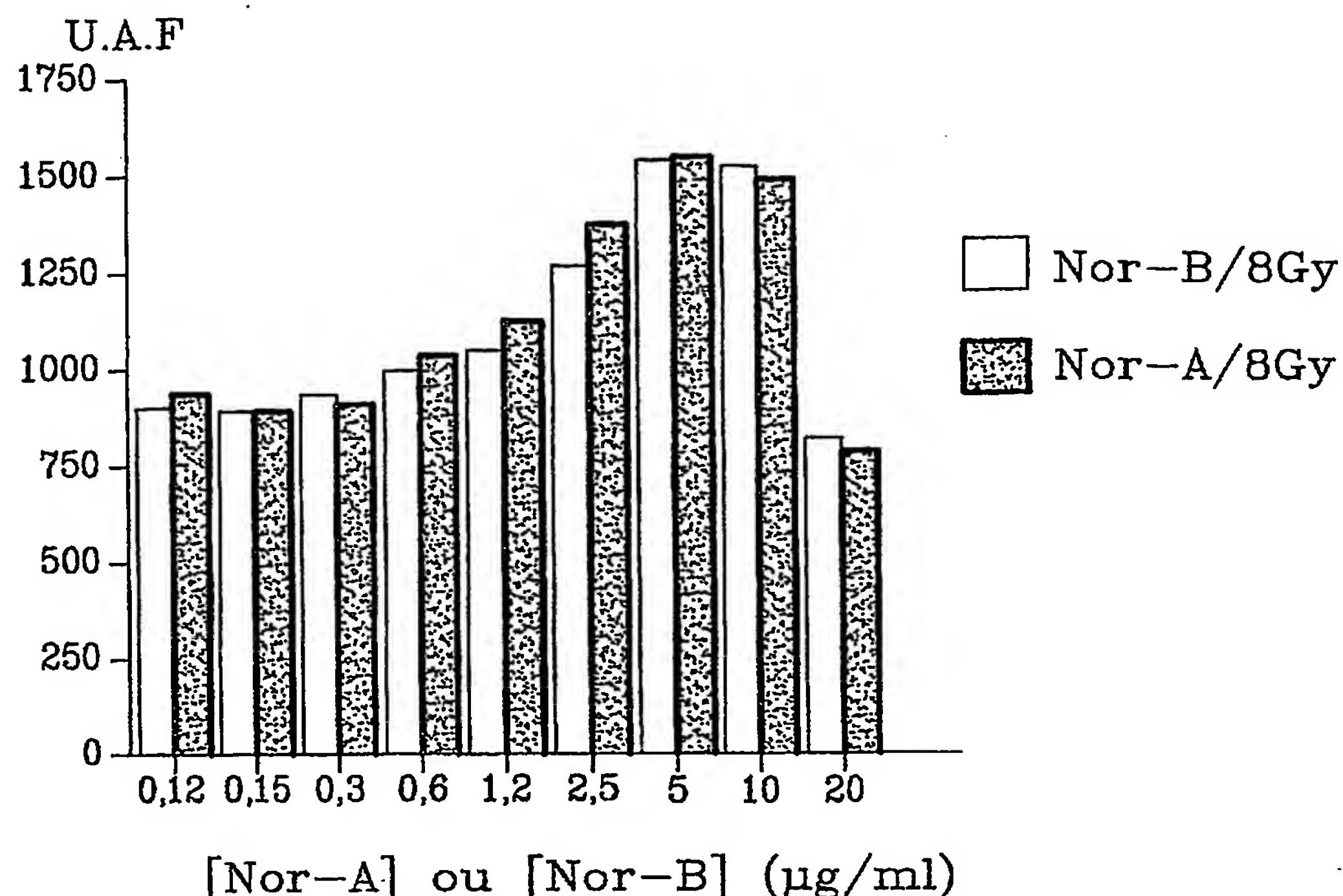
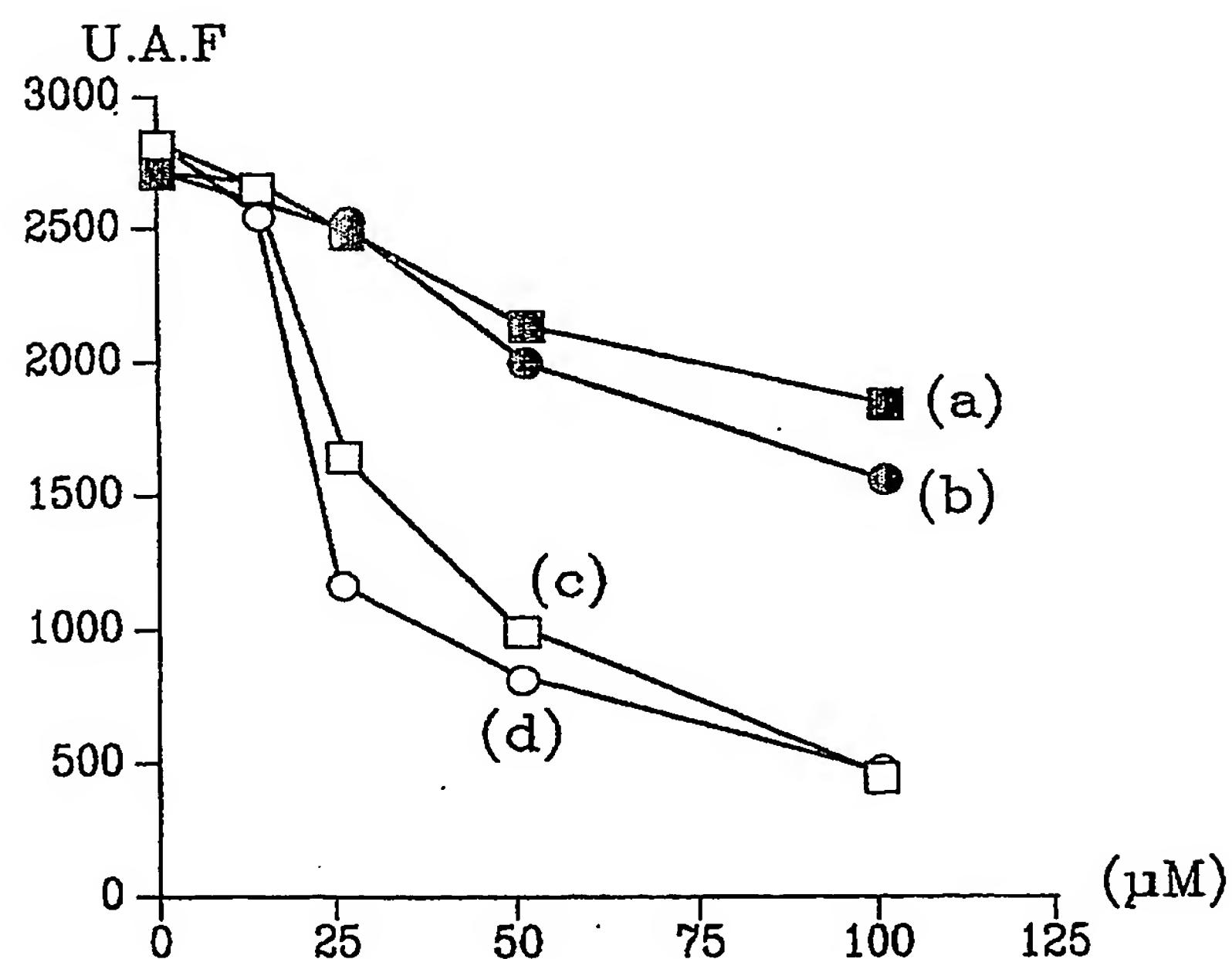
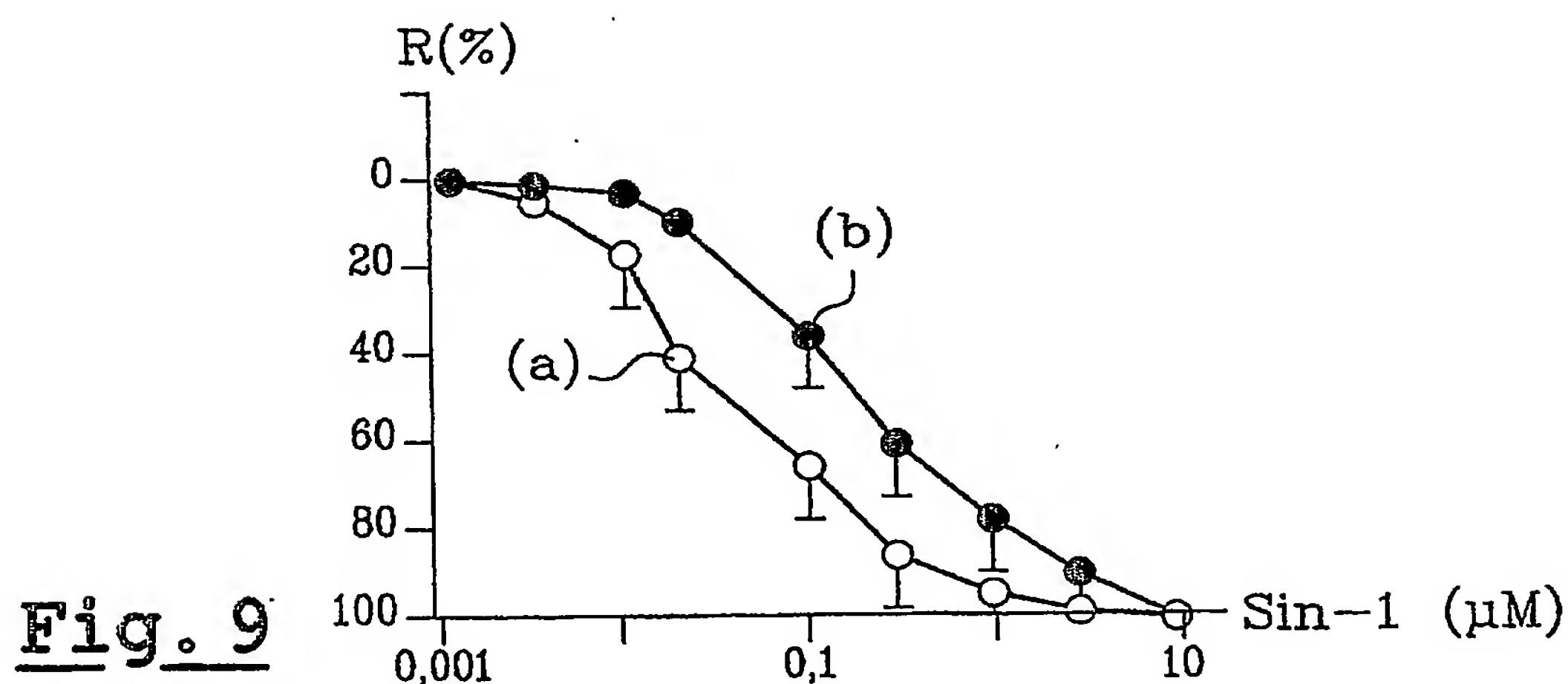
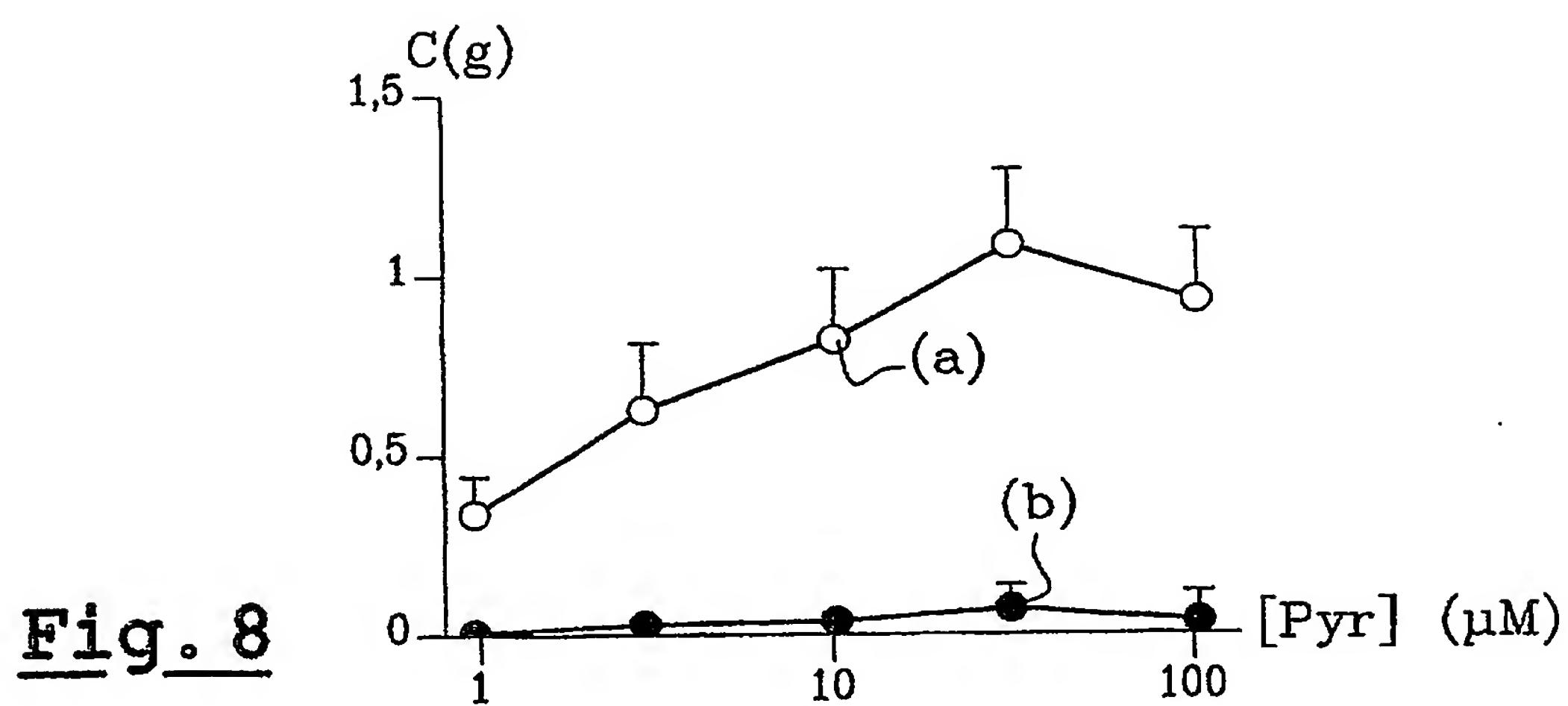


Fig. 3

Fig. 4Fig. 5

Fig. 6Fig. 7



**DÉPARTEMENT DES BREVETS**

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

**BREVET D'INVENTION**
**CERTIFICAT D'UTILITÉ**

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI


  
Ceptif  
N° 11235\*02

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.. / 2..**

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

03 113 W /260899

|                                                                                                                                                                                                                            |                      |                                                     |                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------------------------------------|-------------------|
| Vos références pour ce dossier<br>(facultatif)                                                                                                                                                                             | B 14083.3 FG         |                                                     |                   |
| N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL                                                                                                                                                                                               | 0208081              |                                                     |                   |
| <b>TITRE DE L'INVENTION</b> (200 caractères ou espaces maximum)                                                                                                                                                            |                      |                                                     |                   |
| NOUVEAUX COMPOSES, UTILISABLES EN TANT QU'AGENTS ANTIOXYDANTS DANS DES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES, COSMÉTIQUES OU ALIMENTAIRES ET LEUR PROCÉDÉ DE PRÉPARATION                                                            |                      |                                                     |                   |
| <b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b>                                                                                                                                                                                                |                      |                                                     |                   |
| F. GUERRE<br>c/o BREVATOME<br>3, rue du Docteur Lancereaux<br>75008 PARIS FRANCE<br>422-5/S002                                                                                                                             |                      |                                                     |                   |
| <b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b> (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages). |                      |                                                     |                   |
| Nom                                                                                                                                                                                                                        |                      | MIOSKOWSKI                                          |                   |
| Prénoms                                                                                                                                                                                                                    |                      | Charles                                             |                   |
| Adresse                                                                                                                                                                                                                    | Rue                  | 14, rue Baudelaire                                  |                   |
|                                                                                                                                                                                                                            | Code postal et ville | 67200                                               | STRASBOURG FRANCE |
| Société d'appartenance (facultatif)                                                                                                                                                                                        |                      |                                                     |                   |
| Nom                                                                                                                                                                                                                        |                      | LE GALL                                             |                   |
| Prénoms                                                                                                                                                                                                                    |                      | Thierry                                             |                   |
| Adresse                                                                                                                                                                                                                    | Rue                  | 82, rue Pierre Brossolette - Bâtiment A, Escalier 5 |                   |
|                                                                                                                                                                                                                            | Code postal et ville | 92320                                               | CHATILLON FRANCE  |
| Société d'appartenance (facultatif)                                                                                                                                                                                        |                      |                                                     |                   |
| Nom                                                                                                                                                                                                                        |                      | DESAGE                                              |                   |
| Prénoms                                                                                                                                                                                                                    |                      | Marine                                              |                   |
| Adresse                                                                                                                                                                                                                    | Rue                  | 12bis, rue Vavin                                    |                   |
|                                                                                                                                                                                                                            | Code postal et ville | 75006                                               | PARIS FRANCE      |
| Société d'appartenance (facultatif)                                                                                                                                                                                        |                      |                                                     |                   |
| <b>DATE ET SIGNATURE(S)</b><br><b>DU (DES) DEMANDEUR(S)</b><br><b>OU DU MANDATAIRE</b><br><b>(Nom et qualité du signataire)</b><br>Paris, le 28 juin 2002                                                                  |                      |                                                     |                   |
| <br>F. GUERRE                                                                                                                         |                      |                                                     |                   |

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

**BREVET D'INVENTION**

**CERTIFICAT D'UTILITÉ**

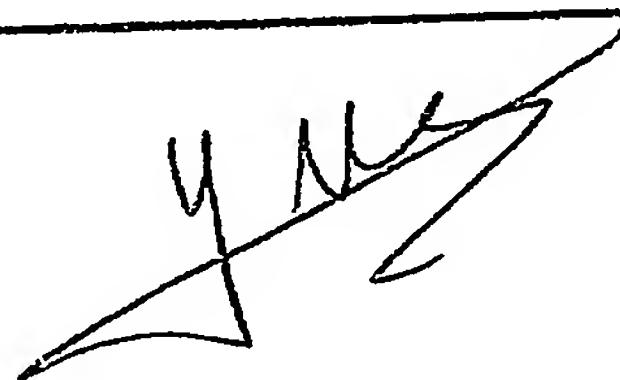
Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 2 . / 2 .

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

03 13 W /260359

|                                                                                                                                                                                                                     |                      |                                                                                       |                       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Vos références pour ce dossier<br>(facultatif)                                                                                                                                                                      | B 14083.3 FG         |                                                                                       |                       |
| N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL                                                                                                                                                                                        | 0208081              |                                                                                       |                       |
| TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)                                                                                                                                                            |                      |                                                                                       |                       |
| NOUVEAUX COMPOSÉS, UTILISABLES EN TANT QU'AGENTS ANTIOXYDANTS DANS DES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES, COSMÉTIQUES OU ALIMENTAIRES ET LEUR PROCÉDÉ DE PRÉPARATION                                                     |                      |                                                                                       |                       |
| LE(S) DEMANDEUR(S) :                                                                                                                                                                                                |                      |                                                                                       |                       |
| F. GUERRE<br>c/o BREVATOMÉ<br>3, rue du Docteur Lancereaux<br>75008 PARIS FRANCE<br>422-5/S002                                                                                                                      |                      |                                                                                       |                       |
| DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages). |                      |                                                                                       |                       |
| Nom                                                                                                                                                                                                                 |                      | MEUNIER                                                                               |                       |
| Prénoms                                                                                                                                                                                                             |                      | Stéphane                                                                              |                       |
| Adresse                                                                                                                                                                                                             | Rue                  | 1, rue Cassini                                                                        |                       |
|                                                                                                                                                                                                                     | Code postal et ville | 75014                                                                                 | PARIS FRANCE          |
| Société d'appartenance (facultatif)                                                                                                                                                                                 |                      |                                                                                       |                       |
| Nom                                                                                                                                                                                                                 |                      | NOWACZYK                                                                              |                       |
| Prénoms                                                                                                                                                                                                             |                      | Stéphanie                                                                             |                       |
| Adresse                                                                                                                                                                                                             | Rue                  | 49, rue Martial Boudet                                                                |                       |
|                                                                                                                                                                                                                     | Code postal et ville | 92370                                                                                 | CHAVILLE FRANCE       |
| Société d'appartenance (facultatif)                                                                                                                                                                                 |                      |                                                                                       |                       |
| Nom                                                                                                                                                                                                                 |                      | TARAN                                                                                 |                       |
| Prénoms                                                                                                                                                                                                             |                      | Frédéric                                                                              |                       |
| Adresse                                                                                                                                                                                                             | Rue                  | 7, allée du Pré Clair                                                                 |                       |
|                                                                                                                                                                                                                     | Code postal et ville | 91190                                                                                 | GIF-SUR-YVETTE FRANCE |
| Société d'appartenance (facultatif)                                                                                                                                                                                 |                      |                                                                                       |                       |
| DATE ET SIGNATURE(S)<br>DU (DES) DEMANDEUR(S)<br>OU DU MANDATAIRE<br>(Nom et qualité du signataire)                                                                                                                 |                      | Paris, le 28 juin 2002                                                                |                       |
| F. GUERRE                                                                                                                                                                                                           |                      |  |                       |